



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA
BARCELONATECH

Escola Superior d'Agricultura de Barcelona

INVENTARI DE PREPARATS DE BACTERIS I ENZIMS AMB ACTIVITAT HIDROLÍTICA PER PROCESSOS DE DIGESTIÓ ANAERÒBIA

Treball final de grau

Enginyeria de Sistemes Biològics

Autor: Fanny Viviana Cruz Gómez

Tutors: Xavier Flotats Ripoll

Maria Teresa Balanyà Martí

Setembre 2018

Resum

El desenvolupament de la ramaderia intensiva, que s'ha produït tant a Catalunya com a la resta d'Espanya durant les últimes dècades, ha comportat problemes mediambientals en aquelles zones on la densitat d'explotacions ha augmentat de manera continuada. Com a conseqüència, la producció de dejeccions s'ha incrementat, sobretot les procedents de porc, anomenades purins. La gestió que es feia d'aquest residu era l'aplicació al sòl com a fertilitzant, però amb l'increment de la densitat ramadera s'ha generat un excedent de nutrients al sòl.

És per aquest motiu que s'estan cercant alternatives al tractament dels purins, que combinades amb el procés de digestió anaeròbia permetin la recuperació de nutrients i un increment en l'eliminació de matèria orgànica.

Una alternativa és l'aplicació dels reactors anaerobis discontinus seqüencials (AnSBR), els quals eliminen un gran percentatge de la matèria orgànica i separen entre una fracció sobrenedant tractada i una purga que conté una elevada concentració de sòlids estabilitzats. Tot i això, en finalitzar el procés, l'efluent líquid encara conté uns valors de sòlids suspesos totals prou alts per ser aplicat en sistemes de reg de precisió.

En el present treball, per una banda, s'ha elaborat un inventari dels preparats enzimàtics hidrolítics destinats en millorar la hidròlisi de partícules complexes i per una altra, s'ha realitzat un assaig anaerobi simulant les condicions del reactor AnSBR. S'ha pres com a substrat purins i s'han aplicat dos preparats comercials (Eurovix i Amapex), amb capacitat hidrolítica, per veure el seu efecte en la descomposició de la matèria orgànica, ja sigui incrementat la producció de biogàs, modificant la velocitat del procés i la concentració final de sòlids suspesos.

Els resultats obtinguts han mostrat una millora tant en la producció de biogàs com en la velocitat de reacció del procés amb l'addició de tots dos preparats. Mentre que en emprar el preparat Eurovix s'ha observat una millora del 59,94 % sobre l'increment del potencial de metà, l'addició del preparat Amapex ha resultat en una millora en la velocitat de reacció del 59 % respecte el grup control.

Pel que fa a la concentració de sòlids suspesos del sobrenedant, no s'ha observat una millora en la reducció dels sòlids en la majoria dels tractaments emprats. Aquest fet es podria atribuir a una resuspensió de partícules a causa de la dinàmica de l'inòcul emprat. No obstant això, s'ha observat una reducció del 24,34 % de SSV i 9,74 % de SST quan s'ha avaluat el preparat Eurovix juntament amb l'addició de l'inòcul, a la dosi 66 mg/l. Per altra banda en aplicar el preparat Amapex directament sobre el substrat sense l'addició de l'inòcul, a la dosi de 1000 mg/l, s'ha observat una reducció del 17,26 % en SSV i del 6,52 % de SST.

Abstract

The intensive livestock development, produced in both Catalonia and the rest of Spain in the last decades, has caused environmental problems in those zones where the exploitation density has increased uncontrollably. As a result, the livestock excrements have incremented, especially those coming from pigs, usually known as slurries or liquid manures. Usually this residue was managed through its application to the soil as a fertilizer, however, with the rise of the livestock density, there has been produced an excess in the soil nutrients.

This is the reason why some other alternatives for the management of pig's slurries are being investigated, so that combined in the anaerobic digestion process, they can allow the recovery of nutrients and an increase in the removal of organic matter.

An alternative is the application of the anaerobic sequential batch reactors (AnSBR), which remove a high percentage of the organic matter and separate the effluent (liquid phase) and the concentrate stabilized solid fraction after the anaerobic digestion process. Nevertheless, once the process is over, the values of the total suspended solids obtained in the effluent are high enough to use them in the precision irrigation process.

In the following project, on the one hand, a review of the enzymatic hydrolytic additives was prepared and on the other hand an anaerobic assay was accomplished simulating the conditions of the AnSBR reactor. Pig's slurries have been taken as substrate and two commercial preparations have been applicated (Eurovix and Amapex) with the hydrolytic capacity to see its effect on the decomposition of the organic matter, by either increasing biogas production, modifying the velocity of the process and the concentration of final suspended solids.

The results obtained have shown an improvement in the biogas production as well as in the reaction rate of the process with the addition of Amapex and Eurovix preparations. While, on the one hand, using the Eurovix preparation, there was observed an improvement of 59,94 % over the increase in the methane potential, on the other hand, the addition of Amapex preparation result in a 59 % of increment in the reaction rate compared to control treatment.

Related to the concentration of the suspended solids of the effluent, there has no sign of improvement in the reduction of the solids in the most of the treatments. That could be because of a resuspended of the particles regarded of the inoculum dynamics employed. Nevertheless, it has observed a reduction of 24,34 % of VSS and 9,74 % of TSS when has evaluated the prepared Eurovix together with the addition of inoculum, at dose of 66 mg/l. On the other hand in applying the prepared Amapex directly on the substrate, without the addition of the inoculum, at dose of 1000 mg/l, a reduction of 17,26 % in VSS and of 6,52 % of TSS has been observed.

Resumen

El desarrollo de la ganadería intensiva, que se ha producido tanto en Cataluña como en el resto de España durante las últimas décadas, ha provocado problemas medioambientales en aquellas zonas donde la densidad de explotaciones ganaderas ha aumentado de manera continuada. Como consecuencia la producción de deyecciones ha incrementado, sobre todo las procedentes de los cerdos, también llamadas purines. Este residuo era aplicado como fertilizante debido a los nutrientes que contiene, pero con el incremento de la densidad ganadera se ha generado un excedente de nutrientes en los suelos agrícolas.

Debido a esto, se están investigando alternativas al tratamiento de los purines, las cuales combinadas con el proceso de digestión anaerobia permitan la recuperación de nutrientes y un incremento en la eficiencia de eliminación de la materia orgánica presente en el residuo.

Una alternativa es la aplicación de los reactores anaerobios discontinuos secuenciales (AnSBR), los cuales permiten la eliminación de un elevado porcentaje de materia orgánica y separan entre una fracción del sobrenadante tratada y la purga que contiene una elevada concentración de sólidos estabilizados. Sin embargo al finalizar el proceso el efluente contiene unos valores en materia orgánica bastante elevados como para dificultar su aplicación en sistemas de riego de precisión.

En el presente trabajo, por un lado, se ha elaborado un inventario de los preparados enzimáticos hidrolíticos que se encuentran en el mercado y por otro, se ha realizado un ensayo de biodegradabilidad simulando las condiciones de un AnSBR. El sustrato empleado ha sido purines de cerdo y se han aplicado dos preparados biológicos comerciales (Amapex i Eurovix), con capacidad hidrolítica, con el objetivo de determinar los efectos que tienen estos sobre la descomposición de la materia orgánica, ya sea incrementando la producción de biogás, modificando la velocidad de reacción y la concentración final de los sólidos suspendidos.

Los resultados obtenidos han mostrado una mejora tanto en la producción de biogás como en la velocidad de reacción como consecuencia de la aplicación de los preparados. Mientras que para el preparado Eurovix se ha obtenido una mejora del 59,94 % del rendimiento de metano, la adición del preparado Amapex ha resultado en una mejora del 59 % de la velocidad de reacción respecto al tratamiento control.

En cuanto a la concentración de sólidos suspendidos del sobrenadante, no se ha observado una mejora en la reducción de los sólidos en la mayoría de los tratamientos empleados. Este hecho se podría atribuir a una resuspensión de partículas debido a la dinámica del inóculo empleado. Sin embargo, se ha observado una reducción del 24,34 % de SSV y 9,74 % de SST cuando se ha evaluado el preparado Eurovix junto con la adición de inóculo, a la dosis 66 mg/l. Por otro lado al aplicar el preparado Amapex directamente sobre el sustrato, en una concentración de 1000 mg/l, sin la adición del inóculo, se ha observado una reducción del 17,26 % en SSV y del 6,52 % de SST.

Taula de continguts

Resum	2
Abstract.....	3
Resumen	4
Índex de Taules i Figures	7
Símbols i acrònims.....	9
Agraïments	11
Capítol 1 Introducció	12
Capítol 2 Objectius.....	14
Capítol 3 Esquema del treball	15
Capítol 4 Digestió anaeròbia	16
4.1. Digestió anaeròbia	16
4.2. Pretractaments.....	17
4.3. Reactor anaerobi discontinu seqüencial (AnSBR)	18
Capítol 5 Inventari de preparats hidrolítics per la millora de la digestió anaeròbia	19
5.1. Introducció	19
5.2. Empreses productores/comercialitzadores d'enzims i bacteris	20
5.3. Preparats enzimàtics i biològics hidrolítics per la millora de la producció de biogàs ..	26
5.4. Consorcis microbians de bacteris i fongs no comercials	29
5.5. Síntesi	29
Capítol 6 Materials i mètodes	30
6.1. Descripció del substrat utilitzat (Purins)	30
6.2. Característiques dels preparats.....	30
6.3. Descripció de l'inòcul	31
6.4. Assaig anaerobi discontinu.....	32
6.5 Tècniques analítiques.....	34
6.5.1. Demanda química d'oxigen	34
6.5.2. Determinació dels sòlids totals (ST), volàtils (SV), sòlids suspesos totals (SST) i sòlids suspesos volàtils (SSV)	35
6.6. Modelització de l'evolució de la producció de metà	36
6.7. Consideracions per elaborar les dades del potencial de metà del substrat	36
6.8. Avaluació estadística dels resultats.....	38
6.9. Comparació estadística de variàncies i mitjanes.....	38

Capítol 7 Resultats i Discussió	39
7.1. Efecte en la producció de metà per part dels preparats sobre els purins.	39
7.1.1. Comparació de mitjanes del paràmetre G_o	40
7.1.2. Test de comparació de dues variàncies.....	40
7.1.2. Test de comparació de dues mitjanes.....	41
7.2. Avaluació de l'efecte de les diferents concentracions de preparats aplicades per determinar quina és la concentració més eficient pel que fa a la millora de G_o	42
7.2.1. Amapex.....	42
7.2.1.1. Test de comparació de variàncies.....	42
7.2.1.2. Test de comparació de mitjanes	42
7.2.2. Eurovix.....	43
7.2.2.1. Test de comparació de variàncies.....	43
7.2.2.2. Test de comparació de mitjanes.....	44
7.3. Comparació de la dosi més efectiva tant pel preparat Amapex com Eurovix	44
7.3.1. Test de comparació de variàncies.....	44
7.3.2. Test de comparació de mitjanes	45
7.4. Comparació de mitjanes del paràmetre k'_{dis}	45
7.4.1.1. Test de comparació de variàncies.....	46
7.4.1.2. Test de comparació de mitjanes.....	47
7.5. Resultat de les analítiques.....	48
7.5.1. DQO total del sobrenedant.....	48
7.5.2. DQO soluble	49
7.5.3. SST i SSV del sobrenedant	51
7.5.4. SST i SSV de tota la mostra.....	52
7.5.5. ST i SV de la mostra	53
Capítol 8 Conclusions	55
Capítol 9 Recomanacions per futurs estudis	57
Capítol 10 Referències bibliogràfiques	58
ANNEXES.....	62
ANNEX A. Comprovació de la correspondència de la DQO soluble amb la DQO biodegradable aportada pels preparats	63
ANNEX B. Gràfics de la producció de biogàs acumulat	65
ANNEX C. Gràfics elaborats sobre el metà produït respecte a la DQO del substrat aplicat per a cada tractament.	70
ANNEX D. Composició del biogàs analitzat mitjançant cromatografia de gasos.....	76

Índex de Taules i Figures

Figures

Figura 4.1. Fases de la digestió anaeròbia i equilibris químics rellevants Font: extret del llibre: Producció de biogàs per codigestió anaeròbia. Institut Català d'Energia. (Flotats i Sarquella, 2008)	16
Figura 4.2. Seqüència d'etapes d'operació d'un reactor anaerobi discontinu seqüencial (AnSBR).	18
Figura 5.1. Efecte del pretractament sobre la degradació de la lignina. Font: Mosier et al. (2005).	19
Figura 6.1. Cambra on s'han incubat els vials a 37 °C	34
Figura 6.2. Reactor emprat per a la digestió de les mostres a 150 °C i determinació de DQO	35
Figura 6.3. Sòlids totals obtinguts després de 24 h a 150 °C	35
Figura 6.4. Cendres obtingudes després de 3,5 h a 550 °C	35
Figura 6.5. Filtració de les mostres per l'obtenció dels sòlids suspesos totals i volàtils	36

Taules

Taula 5.1. Descripció breu d'empreses productores de preparats d'enzims i microorganismes que es troben al mercat.	21
Taula 5.2. Característiques dels preparats destinats a la hidròlisi enzimàtica de les diferents empreses productores.	22
Taula 5.3. Preparats enzimàtics comercials emprats en la millora de la producció de biogàs per residus amb elevat contingut en lignocel·lulosa.	24
Taula 5.4. Enzims comercials aplicats com a pretractament previ al procés de digestió anaeròbia.	25
Taula 5.5. Enzims comercials aplicats i informació del fabricant respecte les condicions a les que ha de ser sotmès.	27
Taula 6.1. Composició i concentració dels micro i macronutrients afegits als vials.	32
Taula 6.2. Composició dels diferents tractaments emprats en l'assaig anaerobi.	33
Taula 7.1. Mitjana i desviació estàndard del potencial de metà obtingut pels diferents tractaments emprats.	39
Taula 7.2. Comparació de variàncies respecte del grup control	40
Taula 7.3. Test de comparació de mitjanes del paràmetre Go respecte del grup control	41

Taula 7.4. Test de comparació de variàncies a diferents concentracions emprades del preparat Amapex.....	42
Taula 7.5. Test de comparació de mitjanes a diferents concentracions emprades del preparat Amapex.....	43
Taula 7.6. Test de comparació de variàncies a diferents concentracions emprades del preparat Eurovix	43
Taula 7.7. Test de comparació de mitjanes a diferents concentracions emprades del preparat Eurovix	44
Taula 7.8. Test de comparació de variàncies dels preparats Amapex i Eurovix.....	44
Taula 7.9. Test de comparació de mitjanes dels preparats Amapex i Eurovix.....	45
Taula 7.10.Mitjana i desviació estàndard de la velocitat de reacció dels diferents tractaments i coeficient de determinació	45
Taula 7.11. Comparació de variàncies respecte del grup control	46
Taula 7.12. Test de comparació de mitjanes del paràmetre k'_{dis} respecte del grup control	47
Taula 7.13. Mitjana de la DQO inicial i final del sobrenedant i percentatge de reducció d'aquest paràmetre en els diferents tractaments emprats.	48
Taula 7.14. Mitjana de la concentració de la DQO soluble a l'inici i final de l'assaig i percentatge de reducció d'aquest paràmetre.....	50
Taula 7.15. Mitjana dels valors de SST i SSV inicials i finals del sobrenedant i percentatge de reducció d'aquest paràmetre.....	51
Taula 7.16.Mitjana dels paràmetres SST i SSV a l'inici i al final de l'assaig anaerobi i percentatge de reducció observat.....	52
Taula 7.17. Mitjana dels paràmetres ST i SV inicials i finals de l'assaig anaerobi i percentatge de reducció observat.....	53

Símbols i acrònims

AMX	Amapex
AnSBR	Anaerobic Sequencing Batch Reactor, reactor anaerobi discontinu seqüencial
% Cel	Índex destinat al creixement de biomassa de les poblacions acidogèniques i metanogèniques
CSTR	Continus Stirred Tank Reactor, tanc de mescla continua
CV	Coeficient de variació
$DQO_{AGV,ini}$	Demanda química d'oxigen corresponent als àcids grassos volàtils inicials
DQO_{ini}	Demanda química d'oxigen inicial (substrat)
DQOt	Demanda química d'oxigen total
DQOs	Demanda química d'oxigen soluble
EU	Eurovix
FLP	Fracció líquid de purins
G	Producció de metà acumulada
G_0	Producció del potencial de metà
IRTA	Institut Recerca i Tecnologia Agroalimentàries
k'_{dis}	Constant global de desintegració
OPRENAC	<i>Tecnologías avanzadas para Optimizar la Recuperación de Energía y Nutrientes en aguas residuales de Alta Carga del sector agroalimentario</i>

PGD i PGN	Plans de gestió de las dejeccions i nutrients
SAO	<i>Syntrophic acetate-oxidizing</i>
SBR	Sequencing Batch Reactor, Reactor Seqüencial Discontinu
SIR	Substrate inoculum ratio, relació substrat-inòcul
SST/TSS	Sòlids suspesos totals, Total suspended solids
SSV/VSS	Sòlids suspesos volàtils, Volatile suspended solids
ST	Sòlids totals
SV	Sòlids volàtils
Y_M	Coeficient de conversió de substrat a biomassa de la població metanogènica
Y_A	Coeficient de conversió de substrat a biomassa de la població acidogènica
% A	Índex d'acidificació
% Cel	Índex corresponent al % de la DQO destinada al creixement de biomassa de les poblacions acidogèniques i metanogèniques.
% M	Índex de metanització
σ	Desviació estàndard
\bar{X}	Mitjana calculada

Agraïments

Volia agrair al professor Xavier Flotats per la seva direcció en aquest treball, per totes les correccions, recomanacions, consells i els ànims brindats, però sobretot voldria agrair-li per transmetre aquella passió, la seva professió.

A la professora Teresa Balanyà per les seves correccions i per l'ajuda brindada en la realització de les tècniques al laboratori.

Agrair també a Aina i a Sandra, ja que sempre han estat al meu costat tant al llarg de la durada del treball com en l'elaboració del muntatge experimental, ja que em van brindar la seva ajuda quan més ho he necessitat.

Agrair a la meua família que han estat sempre al meu costat, donant-me suport i escoltant-me des de l'inici fins al final del treball.

Agrair també a Toni Canyes i a Joaquim Canadell, de l'empresa Amapex Environment SL per proporcionar-me el preparat que comercialitzen i empen amb èxit en el tractament d'aigües residuals, ja que l'he pogut emprar en l'àmbit de la digestió anaeròbia per veure els efectes que en genera sobre la producció del biogàs i sobre la velocitat de desintegració e hidròlisis.

Finalment agrair a tothom que m'hagi donat un consell o hagi incidit d'alguna manera en el treball.

Capítol 1 Introducció

El present treball es desenvolupa en el marc del projecte ***“Tecnologías avanzadas para Optimizar la Recuperación de Energía y Nutrientes en aguas residuales de Alta Carga del sector agroalimentario”***, amb acrònim “OPRENAC”, finançat per INIA. En aquest es desenvolupen noves tecnologies per poder recuperar els nutrients procedents de residus amb elevada càrrega orgànica i es proposen nous sistemes per optimitzar processos de tractament àmpliament utilitzats. Una de les tecnologies en la qual se centra és la d'un bioreactor anaerobi discontinu seqüencial (Anaerobic Sequencing Batch Reactor, AnSBR), el qual permet reduir un elevat percentatge de matèria orgànica procedent del residu a tractar mitjançant el procés de digestió anaeròbia, tot produint biogàs.

Aquest tipus de bioreactor està pensat per ser operat amb diversos tipus de substrat, com ho són els procedents de la indústria vinícola, aigües residuals o bé purins. En aquest treball s'han avaluat aquests últims a causa de la problemàtica que aquests comporten en la ramaderia intensiva.

La principal problemàtica associada als purins és la contaminació de sòls per nitrats, que s'ha incrementat en les darreres dècades com a conseqüència de la intensificació de les explotacions ramaderes. Des de l'antiguitat, els purins eren aplicats com a fertilitzants al camp, però actualment hi ha zones on s'ha generat un excedent en la producció de nutrients i això ha comportat la contaminació d'aqüífers, sòl i aire, afectant el medi ambient i posant en perill la salut de les persones. Arran d'aquest fet es genera la Directiva 91/976/CEE, també coneguda com a Directiva de Nitrats, referent a la protecció d'aigües contra la contaminació produïda pels nitrats emprats en agricultura. S'estableix un límit d'abocament de 170 kg de nitrogen per hectàrea en les zones vulnerables (zones amb un contingut superior a 50 mg/l de nitrats). Per fer front a aquesta situació, cal desenvolupar plans de gestió de les dejeccions, i sobretot dels nutrients (PGN) per tal de prendre accions per adequar la producció a la demanda dels sòls agrícoles (Flotats i Bonmatí, 2016).

L'any 2014 es van tancar 28 plantes centralitzades, a Espanya, destinades al tractament de dejeccions ramaderes, a causa de la reducció d'un 40 % de les retribucions arran la publicació de l'Ordre ministerial 1045/2014. Aquestes plantes tractaven un total de 600.000 m³ a l'any a Catalunya. Davant aquesta situació el govern de Catalunya proposa un nou model de gestió de purins excedents en explotacions agràries, que consta principalment de tres vies: a) canviar la dieta del bestiar per una que permeti reduir la generació de nitrogen, b) la implementació de sistemes de separació sòlid/líquid i c) l'aplicació de plans de gestió col·lectius. L'alternativa per la qual la majoria de ramaders ha optat és la separació sòlid/líquid, ja que d'aquesta manera es pot transportar la fracció sòlida a camps on no hi hagi un excés de nutrients i la fracció líquida es pot aplicar en sistemes de reg de precisió en les zones pròximes on aquest ha estat produït. Hi ha, però, dos factors que dificulten aquesta aplicació: el primer és l'elevada concentració de matèria orgànica i el segon és la mida dels sòlids suspesos que resten en l'efluent. La importància de la reducció de la mida de les partícules rau en el fet que aquesta ha de ser prou petita per no obstruir els sistemes de reg de precisió.

Amb el procés de digestió anaeròbia s'aconsegueix establir la matèria orgànica que contenen els purins però no es recuperen els nutrients. És per aquest motiu que es requereixen noves tecnologies que combinades amb els processos àmpliament estudiats permetin valoritzar aquest residu com una font de nutrients. Una manera de fer-ho és mitjançant l'aplicació d'un reactor seqüencial discontinu (SBR) en condicions anaeròbies (AnSBR) a la fracció líquida dels purins, per tal que posteriorment s'apliqui algun sistema d'eliminació o recuperació de nutrients, si és el cas.

El funcionament d'aquest tipus de bioreactor és cíclic i consta de quatre etapes, les quals són: emplenament, reacció, sedimentació i buidat de l'efluent tractat. Amb la sedimentació s'aconsegueix concentrar biomassa activa encarregada de transformar la matèria orgànica en CO_2 i CH_4 , principals components del biogàs. L'efluent que se n'extreu després de la decantació conté una baixa concentració en sòlids suspesos i matèria orgànica, fet que el permet ser aplicat als camps.

S'han realitzat diversos treballs de final de grau a l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona situats dintre el marc dels SBR, els quals han permès ampliar els coneixements sobre la seva construcció i funcionament. Malgrat que es tracti d'un tipus de bioreactor molt utilitzat en el tractament d'aigües residuals en condicions aeròbies, requereix un grau alt d'automatització per poder tenir més control sobre les diferents etapes del sistema.

Al treball de fi del grau de Valldosera (2016) es va avaluar la reducció de la mida de la partícula mitjançant digestió anaeròbia. Els resultats van mostrar que aquest procés afavoreix la reducció de la mida de la partícula fins a mides aptes per a ser utilitzat en reg. Malgrat això, la concentració de sòlids suspesos total obtinguda encara era massa elevada per complir amb els requisits del reg de precisió.

En el present treball es continuarà avaluant el procés amb l'exploració de l'ús d'additius d'enzims hidrolítics i bacteris, afegint-los en el reactor AnSBR, capaços de trencar l'estructura de les partícules de matèria orgànica complexa, com ho són la lignina i compostos cel·lulòsics, que actuaran sobre l'etapa d'hidròlisi que resulta, en el cas de tractar substrats sòlids o semisòlids com els purins, l'etapa limitant del procés.

En general aquests additius, anomenats sovint "magic powders", són en molts casos una caixa negra, ja que es desconeix la seva composició i no se sap amb certesa el resultat que es pugui obtenir de la seva aplicació (Flotats i Cegarra, 2004). Ara bé, l'avantatge que aquests comporten és que poden ser aplicats directament a l'alimentació del reactor de manera que no es requereix una inversió de maquinària ni una modificació de les instal·lacions. S'ha d'avaluar, però, si aquests comporten algun benefici, ja sigui incrementat la producció de metà, millorant la velocitat de reacció del procés o bé disminuint la concentració de sòlids suspesos en el sobrenedant. Aquests aspectes seran avaluats en el present treball.

Capítol 2 Objectius

L'objectiu del present treball és doble:

Per una banda, és el de realitzar un inventari de preparats d'enzims i/o bacteris d'ús comercial emprats en processos de digestió anaeròbia a partir d'una revisió bibliogràfica prèvia. La finalitat és la de poder esquematitzar els diferents preparats trobats al mercat i detectar els resultats obtinguts com a conseqüència de la seva aplicació.

D'altra banda, el segon objectiu és avaluar els efectes de dos preparats biològics hidrolítics comercials, de les empreses Amapex i Eurovix, sobre la producció de metà, la velocitat de reacció del procés anaerobi i el contingut final de sòlids suspesos en el sobrenedant. Per fer-ho, se simularan les condicions d'un bioreactor AnSBR mitjançant experiments discontinus.

Capítol 3 Esquema del treball

En el present capítol es detalla breument el contingut dels diferents apartats del treball.

El **capítol 1** es correspon amb la introducció del treball, en aquest s'explica el marc en el qual es desenvolupa aquest.

En el **capítol 2** es detallen els objectius de l'elaboració del treball.

Una breu explicació sobre estructura que segueix el treball i els temes descrits en cada capítol es detallen en el **capítol 3**, el qual es correspon amb l'esquema.

Els conceptes sobre digestió anaeròbia i l'explicació del funcionament del bioreactor AnSBR es troben al **capítol 4**.

L'inventari realitzat sobre els enzims i productes biològics amb capacitat hidrolítica que es troben al mercat així com les empreses que les comercialitzen es troben descrits en el **capítol 5**.

Els materials i mètodes emprats per l'elaboració experimental queden descrits en el **capítol 6**. S'han provat dos preparats biològics per tal de veure el seu efecte sobre la producció del potencial de metà i la velocitat de reacció sobre els purins. Els resultats corresponents es descriuen al **capítol 7**, juntament amb la discussió dels resultats obtinguts.

Finalment les conclusions obtingudes de l'assaig experimental es descriuen al **capítol 8**, i les recomanacions de futur al **capítol 9**.

Capítol 4 Digestió anaeròbia

4.1. Digestió anaeròbia

La digestió anaeròbia és un procés biològic en el qual intervenen microorganismes que transformen la matèria orgànica biodegradable, en absència d'oxigen, en productes com el biogàs o el digerit, el qual és un producte estable (Solera et al., 2014).

El biogàs està format principalment per metà (CH_4) i diòxid de carboni (CO_2), les proporcions dels quals dependran del tipus de substrat emprat en el procés. Els valors de metà estan compresos entre el 50 % i el 70 %.

Pel que fa al digerit que s'obté, es tracta d'un residu orgànic estabilitzat i parcialment higienitzat que pot ser emprat com adob per l'agricultura, ja sigui mitjançant la separació sòlid-líquid per tal de poder transportar la fracció sòlida, la qual també pot ser emprada en processos de compostatge.

Les quatre etapes principals de les quals consta el procés de digestió anaeròbia són: desintegració/hidròlisi, acidogènesi i fermentació, acetogènesi i metanogènesi (vegeu Figura 4.1.). D'aquestes, l'etapa de la hidròlisi constitueix l'etapa limitant del procés (Flotats i Sarquella, 2008).

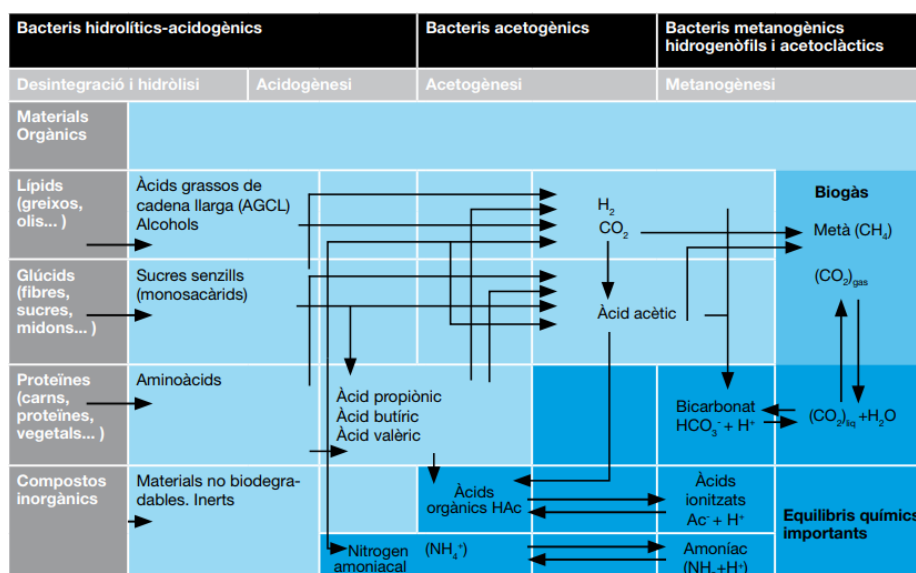


Figura 4.1. Fases de la digestió anaeròbia i equilibris químics rellevants Font: extret del llibre: Producció de biogàs per codigestió anaeròbia. Institut Català d'Energia. (Flotats i Sarquella, 2008)

Durant la desintegració, les partícules de matèria orgànica complexa passen a macromolècules. Durant la hidròlisi, les macromolècules, com són els carbohidrats, lípids i proteïnes, es transformen en monòmers solubles, com ho són els sucres, àcids grassos de cadena llarga i aminoàcids, gràcies a l'acció dels enzims extracel·lulars. A partir d'aquestes substàncies orgàniques, mitjançant els processos d'acidogènesi i acetogènesi, es formaran els substrats precursors (acetat i H_2) per la formació del biogàs.

4.2. Pretractaments

Amb l'objectiu d'accelerar els processos de desintegració i d'hidròlisi dels residus orgànics, des de fa més de 20 anys s'han emprat diversos tipus de pretractaments. Aquests poden ser de tipus mecànics (ultrasons, microones, pressió, etc.), tèrmics (a alta o baixa temperatura), termoquímics (combinació dels anteriors) i biològics (enzimàtics) (Flotats et al., 2016).

Dintre dels tractaments mecànics o físics es troben: ultrasons, molins de boles o homogeneïtzadors d'alta pressió, els quals afavoreixen la reducció de la mida de la partícula sense haver d'emprar mètodes químics ni microorganismes durant el tractament.

Durant els pretractaments químics s'empren àcids o bases per alterar les estructures químiques i físiques dels compostos lignocel·lulòsics. Els principals tractaments emprats per la millora de la producció de biogàs són: compostos alcalins, emprats sobretot en la indústria de fabricació del paper, com serien els hidròxids. Un dels inconvenients associat amb el pretractament químic és la generació de productes inhibidors com ara el furfural, àcid fòrmic, etc. (Zheng et al., 2014). S'ha emprat l'atac amb l'amoníac en medi líquid pel tractament de la fracció sòlida de purins de porc per part de Jurado (2014), obtenint un increment del potencial de metà del (85-110) % en comparació a les mostres control.

Pel que fa als pretractaments biològics, s'empren microorganismes productors d'enzims extracel·lulars com és el cas de fongs o bacteris, o bé s'apliquen enzims hidrolítics comercials perquè actuïn en el procés de descomposició i hidròlisi del material sòlid. Aquest tipus de pretractament té com a avantatge que no requereix una gran inversió en infraestructures, ja que pot ser aplicat sobre el substrat, sigui directament en el digestor o prèviament en una bassa de descomposició abans de l'entrada al digestor.

Existeix també l'aplicació de consorcis microbians que es troben a la natura en condicions molt determinades, com ho són els microorganismes trobats al tracte intestinal dels remugants, o els trobats a fonts termals naturals, els quals tenen una capacitat elevada de secretar enzims per a la descomposició de material de difícil degradació.

Els microorganismes trobats en el sistema digestiu de remugants tenen molt bona capacitat de degradar materials lignocel·lulòsics, gràcies a la diversitat de microorganismes que es troben implicats: bacteris, fongs, protozous i arquees. És per aquest motiu que hi ha estudis centrats en la utilització de microorganismes del rumen per ajudar al procés d'hidròlisi de materials amb un contingut elevat en lignina. Als treballs de Hu i Yu (2015), Baba et al. (2013) o Ozbayram et al. (2017), s'han emprat microorganismes del tracte intestinal de remugants per tal d'incrementar l'eficiència del potencial de metà en substrats agrícoles amb elevat contingut en lignocel·lulosa, obtenint bons resultats en el procés de descomposició. Tot i que s'ha demostrat que es tracta de microorganismes amb gran capacitat hidrolítica, el principal problema sobre el seu ús és la dificultat de comercialitzar aquest producte.

En general, gràcies a l'actuació dels pretractaments s'aconsegueix reduir la mida de la partícula i per tant incrementar la superfície d'actuació dels enzims extracel·lulars, de manera que hi ha una major descomposició de partícules de composició complexa (Vavilin et al., 2008). D'aquesta manera s'aconsegueix actuar sobre l'etapa limitant del procés, la hidròlisi.

En l'etapa de la hidròlisi intervenen enzims capaços de descomposar la matèria procedent de l'etapa anterior a aquesta, la de desintegració. Les taxes de desintegració i hidròlisi s'expressen mitjançant una cinètica de primer ordre, la primera respecte la concentració de matèria orgànica particulada i la segona respecte la concentració de cada una de les macro-molècules: proteïnes, lípids i carbohidrats (Solera et al., 2014).

La cinètica de primer ordre només pot ser aplicada quan el factor limitant és la superfície de degradació de les partícules que formen el substrat, que acostuma a ser el cas per substrats sòlids, i no la concentració de microorganismes hidrolítics (Vavilin et al., 2008).

4.3. Reactor anaerobi discontinu seqüencial (AnSBR)

Els AnSBR's s'empren per al tractament de residus semisòlids o bé per residus amb una consistència líquida, com seria el cas dels purins o aigües residuals. Es caracteritzen per un funcionament cíclic, cadascú dels quals comprèn una sèrie de fases les quals són: emplenat, reacció, decantació i buidat del sobrenedant (vegeu Figura 4.2.) (Flotats et al., 2016).

Presenta els següents avantatges respecte els sistemes convencionals: reducció de costos d'inversió, ja que les fases de reacció i decantació tenen lloc en un únic reactor; flexibilitat dels afluents a tractar, ja que aquests poden ser diversos i es pot aconseguir rendiments d'eliminació elevats; gestió senzilla amb un alt nivell d'automatització per tal de controlar els temps de reacció, decantació i buidat (Flotats i Magrí, 2000).

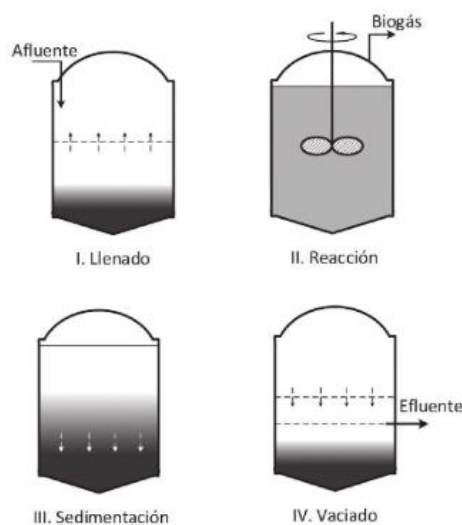


Figura 4.2. Seqüència d'etapes d'operació d'un reactor anaerobi discontinu seqüencial (AnSBR).
Font: Flotats et al. (2016)

Aquest tipus de reactors han estat emprats per Angenent et al. (2002) pel tractament de purins gràcies a la seva elevada eficiència en l'eliminació de la matèria orgànica i a la seva capacitat de tractament de substrats amb un contingut de nitrogen amoniacal elevat.

Capítol 5 Inventari de preparats hidrolítics per la millora de la digestió anaeròbia

5.1. Introducció

En aquest capítol s'ha realitzat un inventari de les principals empreses productores d'enzims així com dels productes comercials que es troben al mercat i que estan destinats a millorar l'etapa de la hidròlisi en processos de digestió anaeròbia. Per tal de realitzar l'inventari de les empreses productores o comercialitzadores d'enzims destinats a millorar l'etapa d'hidròlisi, s'ha procedit a consultar webs d'empreses mediambientals destinades a comercialitzar aquest tipus de producte. La principal font d'informació, relativa a l'eficiència dels preparats biològics, han estat publicacions d'articles científics, on s'exposen les proves experimentals realitzades amb aquests additius biològics, per tal de determinar els seus efectes sobre la descomposició del material recalcitrant.

Tal com s'ha explicat en el capítol de digestió anaeròbia, la hidròlisi és l'etapa limitant de procés, a causa de la lenta descomposició dels materials sòlids. Aquestes partícules estan constituïdes principalment per materials lignocel·lulòsics, com són els casos de les dejeccions ramaderes, materials procedents del sector agrícola, de la indústria de la fabricació del paper, etc. La lignina és un material que recobreix físicament la cel·lulosa i hemicel·lulosa, materials que són biodegradables en condicions anaeròbies. El problema però és que la seva velocitat de descomposició és tan lenta que a efectes pràctics es considera nul·la (Flotats et al., 2016).

Les fortes associacions entre la lignina, cel·lulosa i hemicel·lulosa atorguen rigidesa a la matriu de lignina (vegeu Figura 5.1.), ocasionant la resistència a la degradació enzimàtica (Zhong et al., 2011). És per aquest motiu que s'empren diferents pretractaments, físics, químics i biològics, que actuen sobre el trencament de la lignina permetent que la fracció biodegradable sigui assequible als enzims hidrolítics extracel·lulars.

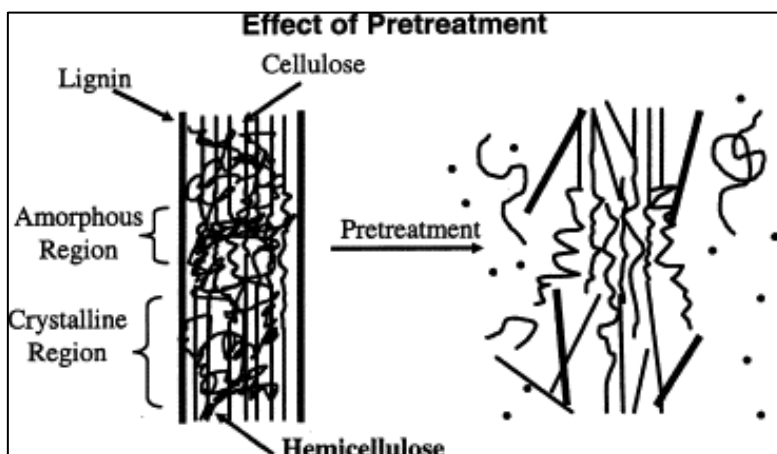


Figura 5.1. Efecte del pretractament sobre la degradació de la lignina. Font: Mosier et al. (2005).

En processos de digestió anaeròbia, l'actuació dels enzims es tradueix en un increment de la producció de metà, en una reducció de la mida de la partícula si el procés és favorable i no hi ha cap tipus d'inhibició. Cal destacar que els enzims són molt específics i necessiten condicions concretes per assegurar-ne el bon funcionament.

Un dels principals inconvenients de la compra d'enzims és el seu elevat cost. Com més recalcitrant sigui el compost a tractar, més quantitat d'enzims es requeriran per aconseguir valors de

degradacions raonables, incrementant encara més el seu cost (Banerjee et al., 2010). El segon inconvenient de l'ús d'enzims comercials és la falta de caracterització dels enzims que componen la barreja (Van Dyk i Pletschke, 2012). Banerjee et al. (2010) asseguren que els preparats enzimàtics comercials contenen enzims no essencials, que si no fossin presents en la barreja, s'incrementaria l'eficiència d'actuació i a més s'abaratirien costos.

Malgrat l'avanç en investigacions realitzat en les últimes dècades, s'ha observat una baixa eficiència dels enzims hidrolítics en la descomposició de la lignocel·lulosa recalcitrant. Aquest factor, i l'elevat cost d'aquests, resulten una barrera per la viabilitat econòmica del procés de conversió de biomassa en combustibles o biogàs (Chylenski et al., 2017).

Diversos estudis s'han centrat en l'aplicació d'enzims hidrolítics comercials o microorganismes sobre substrats lignocel·lulòsics per la producció d'etanol (Chen et al., 2007; Castoldi et al., 2014; Van Dyk i Pletschke, 2012; da Costa et al., 2015), però són pocs els que estudien els efectes sobre la producció de biogàs.

La selecció dels enzims per la seva aplicació en la producció de biogàs, o altres combustibles, pot realitzar-se principalment de dues maneres: a partir d'enzims individuals i la segona, és una barreja d'enzims de composició diversa, la manca de caracterització dels enzims que la conformen resulta un problema, ja que molts cops, la seva addició no es tradueix en una millora de la degradació del substrat i s'han d'afegir encara més enzims individuals específics per tractar el substrat (Van Dyk i Pletschke, 2012). De totes maneres, és important determinar l'activitat enzimàtica de la barreja d'enzims a emprar per tal que es pugui aplicar la barreja d'enzims apropiada sobre un substrat concret, realitzant-se així una correcta degradació del substrat.

5.2. Empreses productores/comercialitzadores d'enzims i bacteris

En aquest apartat se citen les diferents empreses que hi ha al mercat, destinades a comercialitzar preparats biològics, compostos principalment per enzims i bacteris.

A la Taula 5.1 s'inclou una breu descripció de les empreses productores o comercialitzadores d'enzims; se cita la web de cada empresa i la seva seu principal.

Taula 5.1. Descripció breu d'empreses productores de preparats d'enzims i microorganismes que es troben al mercat.

Nº	Nom Empresa	Seu principal	Descripció breu de l'empresa
1	Amapex	Espanya	Empresa que presta serveis d'estudi de mercat i estudis ambientals. Ha obtingut resultats beneficiosos en el tractament d'aigües en medis aerobis a partir del microorganisme <i>Bacillus subtilis</i> . (http://amapex.net/)
2	Biofuture	Irlanda	Biofuture és una empresa que dissenya i produeix materials biològics adreçats a aplicacions de tractament d'aigües, bioremediació, etc. (http://www.biofuture.ie/)
3	Dupont	EEUU	Es tracta d'una companyia dedicada al desenvolupament i sostenibilitat del sector alimentari i energètic. És una de les empreses líders en producció d'enzims. (http://www.dupont.com/).
4	Eurovix	Itàlia	Empresa especialitzada en l'àmbit de microbiologia, combina eines biotecnològiques per oferir productes biològics destinats a l'agricultura, medi ambient i aquicultura. Comercialitzen una barreja de microorganismes i enzims per processos de digestió anaeròbia i compostatge, entre d'altres. (http://eurovix.it/es/)
5	Novabiotec	Alemanya	Empresa que combina la microbiologia i la biotecnologia. Entre els seus productes es troben preparats d'enzims per a processos destinats a la producció de biogàs. (https://novabiotec.de/)
6	Novozymes	Dinamarca	Utilitza bacteris i fongs per produir enzims gràcies al seu ràpid creixement. Obtenen els enzims principalment d' <i>Aspergillus oryzae</i> . Per tal de millorar la producció d'enzims específics, es modifica el gen del microorganisme encarregat de produir l'enzim o bé se substitueix per un altre que permeti la producció de l'enzim específic i un ràpid creixement. Disposen d'una col·lecció de microorganismes a partir de la qual seleccionen i milloren la producció d'enzims. Els enzims que es comercialitzen inclouen camps diversos com la indústria alimentària, farmacèutica i medi ambient. (https://www.novozymes.com/en)
7	Ipus	Àustria	Empresa biotecnològica, centra el seu estudi en la producció natural de bioregulators minerals per incrementar la població microbiana en processos de generació de biogàs. Les zeolites actuen com a medi també per evitar inhibicions i toxicitat, a més de proveir nutrients al medi i tenir capacitat catalítica. (http://www.ipus.at/)

Les empreses descrites presten un servei d'assessorament tècnic per tal d'avaluar les instal·lacions i el tipus de residu a tractar, per poder determinar així la dosi correcta d'aplicació del preparat, realitzant un programa de tractament del residu o aigua residual.

La informació representada a la Taula 5.2 inclou dades extretes de les fitxes tècniques o materials proporcionades pels fabricants. Aquests fan principalment referència a preparats biològics aplicats en processos de digestió anaeròbia tot i que també s'inclouen enzims o microorganismes que s'han aplicat exitosament en la descomposició d'aigües residuals en medis aerobis, com és el cas d'Amapex.

Taula 5.2. Característiques dels preparats destinats a la hidròlisi enzimàtica de les diferents empreses productores.

Nº	Nom Empresa	Preparat enzimàtic	Composició	Descripció del producte	Font d'informació/ Fitxa tècnica
1	Amapex	-	Bacteris aerobis seleccionats específicament. Llevats Biocatalitzadors minerals absorbents Carbohidrats, aminoàcids, oligopèptids. Extractes vegetals	Promotor biològic específic per la recuperació i neteja de sòls, aigües residuals i industrials amb compostos contaminants orgànics. Optimitza i agilitza els processos de biodegradació realitzats per la microflora autòctona en sòls i aigües que són l'objecte de tractament. Propietats físiques: pols granular, contingut d'humitat del (4 - 5) %, pH en solució $7 \pm 0,5$.	Disponible a : http://cort.as/-7nXy . Consultat el 20/02/2018
2	Biofuture	BFL 4400AN	Fongs i bacteris anaerobis facultatius. Enzims: cel·lulases, proteases, amilases, lipases	Producte que utilitza microorganismes i enzims naturals (no modificats) i innocus, amb capacitat de convertir la M.O. en àcids. Indicacions d'ús: hidratar els bacteris en aigua en proporcions 1:10 a 30 °C durant 1h abans de l'aplicació. Afegir el producte a l'entrada del digestor.	Disponible a: http://cort.as/-7nYY . Consultat el 20/02/2018
3	Dupont		Enzims produïts pels fongs: <i>Trichoderma reesei</i> i <i>Myceliophthora thermophila</i> .	L'addició d'enzims a digestors de tractament de material agrícola ha reduït la viscositat, ha incrementat un 8 % a producció de metà i ha permès la reducció de 10 % de costos destinats a l'operació del digestor.	Disponible a: http://cort.as/-7nVj . Consultat el 20/02/2018
4	Eurovix	Micropan	Bioactivador específic per maximitzar la biodegradabilitat dels substrats orgànics com ara femtes, residus forestals i agrícoles.	Producte destinat a augmentar la digestibilitat dels substrats, augmentant així la producció de biogàs. Redueix la formació d'escumes i capes flotants.	Disponible a: http://cort.as/-7nZm . Consultat el 20/02/2018

5	Novabiotec	Novalin	Enzims descomponedors de cel·lulosa, hemicel·lulosa i lignina	És capaç de suportar elevades càrregues orgàniques i funciona molt bé en fermentacions seques. Redueix la viscositat del substrat i la formació de capes d'escuma. Criteri d'ús: mantenir un pH 7-8 per a processos fermentatius. Règim de temperatures 40 °C - 60 °C.	Disponibles a: http://cort.as/-7nag i http://cort.as/-7nbC . Consultats el 20/02/2018
6	Novozymes	BGMax	Microorganismes facultatius	La dosi d'aplicació depèn de la càrrega orgànica que s'apliqui al reactor. Es tracta d'una pols seca soluble en aigua. Conté 2 bilions de bacteris CFU/g	Disponible a: http://www.ifmenviro.com/pdf/BGMax_ApplicationSheet.pdf . Consultat el 20/02/2018
7	Ipus	IPUS meth-max® Biogas Migulators	Minerals naturals: Clinoptilolite-Zeolite	Els silicats permeten absorbir nutrients i elements tòxics. Permet alliberar els nutrients a poc a poc i reté fortament compostos tòxics.	Disponible a: http://www.ipus.at/en/ipus-products/biogas#ipus-meth-max%C2%AE-m . Consultat el 20/02/2018

Tal com indiquen alguns autors, Dupont i Novozymes són els principals productors d'enzims (Brémond et al., 2018). A l'hora de fer una revisió de la literatura, s'han trobat molts articles científics on s'han aplicat els preparats proporcionats per Novozymes per la degradació de diferents tipus de substrat, sobretot materials lignocel·lulòsics de difícil descomposició, ja sigui per la producció d'etanol com per la millora del rendiment en plantes de producció de biogàs.

En el treball realitzat per Arif Sania et al. (2018), s'ha sintetitzat els efectes produïts per diversos tipus de materials encarregats de fer la funció de suport pel creixement de diverses comunitats microbianes, presents en el procés de digestió anaeròbia. Entre aquests materials es troba la zeolita, la qual immobilitza elevades concentracions de flora microbiana en forma de biofilms. Per tant, aquest tipus de materials són un tipus d'additius i tenen gran importància, ja que ajuden a l'estabilització del procés de digestió anaeròbia i que faciliten la formació de microorganismes metanogènics.

A continuació, s'observa a la Taula 5.3 preparats enzimàtics comercials trobats a la literatura, els quals s'han emprat per incrementar la producció de biogàs i la millora del potencial de metà en diferents substrats. La columna de rendiment de metà representa l'increment de metà respecte al grup control, al qual no se li ha afegit enzims.

Taula 5.3. Preparats enzimàtics comercials emprats en la millora de la producció de biogàs per residus amb elevat contingut en lignocel·lulosa.

	Substrat	Additius enzimàtics comercials	Dosi d'aplicació	Increment CH ₄ (%)	Carrega orgànica	Procedència del inòcul	T _a (°C)	Altres especificacions	Referència bibliogràfica
5.3.1	Polpa de paper deshidratada procedent de la fabricació del paper	Novozymes	1 % ST _{substrat}	40	2,2 gSV·L ⁻¹ dia ⁻¹	Reactor alimentat per fems de vaca i porc i residus de l'activitat agrària (blat).	38 ± 2	Digestió anaeròbia semi-continua. Els enzims es van afegir als reactors diàriament ¹ .	Kolbl et al. (2017)
		Novalin	0,1 mg/g SV	45					
		Micropan Biogas	50 mg/L _{substrat}	18					
		BFL 4400AN	0,03 g/g SV	16					
		Zeolit M	4 g/L _{substrat}	10					
5.3.2	Plomes de pollastre	Savinase 16 L, Type EX. (alcalin endopeptidasas)	0,53 ml/g SV _{substrat}	40-80	(1,0-2,5) gSV·L ⁻¹ dia ⁻¹	Residu sòlid d'un digestor municipal.	55	Assaig anaerobi discontinu i assaig semicontinu amb codigestió (OFMSW).	Forgács et al. (2013)
5.3.3	S1: Triticale	Micropan biogàs (Eurovix) i	0,01 % ST _{inòcul+substrat}	6-8	10 gSV/L	Planta de biogàs d'origen agrícola.	38 ± 2	Realització d'un assaig continu i un altre de discontinu.	Kolbl et al. (2014)
	S2: Fangs de residus municipals	Novozymes cocktail mix	1 % ST _{substrat}	38-22	7 gSV/L	Planta municipal d'aigües residuals.			

¹ Als treballs realitzats per Kolbl et al., (2014 i 2017) s'han introduït els enzims diàriament als reactors seguint les instruccions dels fabricants simulant les condicions d'un bioreactor a gran escala.

A la Taula 5.4 es pot observar diferents enzims que han estat emprats com a pretractament previ al procés de digestió anaeròbia per tal de millorar la biodegradabilitat dels residus procedents de la indústria agrícola.

Taula 5.4. Enzims comercials aplicats com a pretractament previ al procés de digestió anaeròbia.

	Substrat	Enzims/preparat	Proveïdor	Activitat enzimàtica	SIR/ Procedència de l'inòcul	Increment CH ₄ (%)	Referència bibliogràfica
5.4.1	Diferents materials lignocel·lulòsics: cànem, lli, rostoll de blat de moro, Miscanthus, salze, ensitjat blat i palla de blat.	<i>Lacasse</i> (<i>Trametes versicolor</i>)	Sigma-Aldrich	2 U/g substrat; 1 U és l'alliberament de 1 µmol catecol/min a pH 6 i 25 °C.	0,5 g SV _{substrat} /g SV _{inòcul} . Inòcul procedent del tractament de fems de vaca i ensitjat de blat de moro.	34 i 50 pels substrats Miscanthus i salze respectivament ²	Schroyen et al. (2015)
		<i>Versatile peroxidase</i> (<i>Bjerkandera adusta</i>)	Jena Bioscience	1,5 U/g substrat; 1 U és l'alliberament de 1 µmol Mn(II)/min a pH 4,5 i 25 °C.			
5.4.2	Residus de la panotxa de blat de moro	Ultraflo® L Dosi:0,2U feruloyl esterasa/g substrat	Novozymes	endo-1,3(4)-β-glucanase, and collateral cellulose, xylanase and feruloyl esterase entre altres.	0,5 g SV _{inòcul} /g SV _{substrat} procedent d'un digestor anaerobi mesòfil.	14,6	Pérez-Rodríguez et al. (2016)
	Sarment de la vinya					59,8	
5.4.3	Residus de la panotxa de blat de moro	Lacassae	Sigma-Aldrich	2 U/g substrat; 1 U és l'alliberament de 1µmol catecol/min a pH 6 i 25 °C.	0,5 g SV/0,5 g SV Inòcul procedent del tractament de fems de vaca i ensitjat de blat de moro.	25	Schroyen et al. (2014)
		manganese peroxidase (MnP) i versatile peroxidase(VP)	Jenna Bioscience	MnP:5 i VP: 1,5 U/g substrat; 1U és l'alliberament de 1 µmol Mn(II)/min a pH 4,5 i 25 °C.		17	
		Lacassae + MnP + VP				16 (6 h), 14 (24 h)	

² S'ha calculat un increment del 34 % i 50 % del potencial de metà estimat pel tractament de Miscanthus i Salze quan s'han incubat durant 24 h, respecte del grup control sense incubació ni enzims.

5.3. Preparats enzimàtics i biològics hidrolítics per la millora de la producció de biogàs

En aquest apartat s'expliquen els diferents preparats, trobats a la literatura, els quals s'han emprat per a la millora del rendiment del potencial de metà. Per tal de facilitar la lectura i compressió dels documents revisats, s'ha procedit a l'elaboració de les Taules 5.3 i 5.4 per resumir els principals substrats sobre els quals s'han aplicat els preparats enzimàtics i les condicions de règim d'operació dels reactors. A les Taules 5.3 i 5.4, s'expliquen també algunes consideracions rellevants que els autors han emprat en les seves publicacions referents a l'actuació dels enzims o a diferents pretractaments amb la finalitat d'actuar sobre l'etapa de la hidròlisi de les partícules compostes per materials lignocel·lulòsics.

5.3.1. L'objectiu de l'estudi elaborat per Kolbl et al. (2017), fou el de demostrar estimacions reals de la factibilitat d'incloure la polpa de paper deshidratada com a cosubstrat en una planta de digestió anaeròbica agrícola.

Durant el període comprès entre el dia 0 i el dia 28, el substrat aplicat fou un tipus de paper deshidratat obtingut per la indústria paperera. A partir dels dies 29-45 es va aplicar un paper deshidratat amb diferent composició que el primer. Finalment, els dies 46-60 es va aplicar purí a més a més del segon tipus de paper afegit, amb l'objectiu d'evitar una manca de nutrients i metalls que puguin influir negativament en l'activitat dels microorganismes. Es va observar un increment del 40 % i 43 % de la producció de metà gràcies a l'addició dels preparats enzimàtics de Novozymes i Novalin, respectivament.

5.3.2. En el treball realitzat per Forgács et al. (2013), s'han provat dos tipus diferents de pretractament: un tèrmic i un altre d'hidròlisi enzimàtica. A més a més, s'ha realitzat una altra prova amb la combinació dels pretractaments esmentats, amb l'objectiu d'incrementar la digestibilitat de les plomes de pollastre, les quals tenen un elevat contingut en queratina.

Per tal de determinar les condicions de treball de l'assaig semi continu, es va realitzar un assaig de biodegradabilitat previ, on es va avaluar l'efecte dels enzims durant 0,2 h i 24 h a les dosis 0,53 ml/g $SV_{\text{substrat}} - 2,66 \text{ ml/g } SV_{\text{substrat}}$. Els autors van trobar un increment de la solubilització de la proteïna del 16 % - 40,2 % com a conseqüència de la hidròlisi enzimàtica.

En l'assaig de biodegradabilitat es va obtenir un rendiment del potencial de metà de $(0,40 \pm 0,007) \text{ m}^3/\text{kg } SV$ en aplicar una dosi de 0,53 ml/ g SV del preparat Savinase directament als vials. Aquest increment representà un 122 % respecte del tractament sense enzims.

Respecte a l'assaig semi continu, els resultats obtinguts van ser de $(0,485 \pm 0,021) \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg } SV$ pel tractament enzimàtic. Aquest fou superior respecte al reactor control, el qual no se li afegí cap additiu enzimàtic. Mentre que pel primer cas Forgács et al. (2013) van trobar una estabilitat en el procés, en el segon cas es va observar un increment de la concentració d'amoni de fins a 5,2 g/l, la qual cosa resultà en una baixada del rendiment de potencial de metà.

5.3.3. Al treball elaborat per Kolbl et al. (2014) s'han provat dos preparats comercials: Micropan (Eurovix) i un còctel d'enzims proporcionat per Novozymes (vegeu Taula 5.3 i Taula 5.5). S'han realitzat també dos experiments: el primer realitzat en règim semi continu i el segon ha estat un assaig de biodegradabilitat anaeròbia.

Els resultats obtinguts mostraren un augment significatiu de la producció de metà com a conseqüència de l'addició del preparat Novozymes cocktail mix. Per contra, l'increment produït pel preparat Micropan Biogas (Eurovix) fou molt baix 6 % - 8 %. Els mateixos autors Kolbl et al. (2014), mencionen que aquests resultats són inferiors als detectats en un experiment previ no publicat en aplicar Micropan Biogas i indiquen que aquest fet podria haver-se produït per la diferència entre inòculs i substrats emprats en cada assaig o bé a la curta durada de l'experiment.

Un resultat destacable, a causa de l'addició dels preparats, ha estat la reducció de la viscositat com a conseqüència de l'aplicació dels enzims, segons observen Kolbl et al. (2014).

Taula 5.5. Enzims comercials aplicats i informació del fabricant respecte les condicions a les que ha de ser sotmès.

Enzims	Mostra	Descripció	Aplicació	pH	T °C	Dosi recomanada
Novozymes cocktail mix	NS81217	Amilasa	Degradació del midó	5-9	30-80	1 % ST _{substrat}
	NS81220	Proteasa	Degradació de proteïnes.	7-10	40-80	
	NS81233	Hemicel·lulasa	Degradació de la hemicel·lulosa	6,5-9,5	35-65	
	NS81022	Lipasa	Degradació de greixos	5-10	30-50	
	NS81210	Complex de cel·lulasa.	Degradació de cel·lulosa	4,5-7,5	35-65	
Eurovix	Micropan Biogas	Barreja de bacteries anaeròbies facultatives i compostos enzimàtics	Hidròlisi de polisacàrids, proteïnes i greixos.	6-7	-	0,01 % ST _{inòcul+substrat}

Font: Informació suplementària: "Addressing case specific biogas plant tasks: industry oriented methane yields derived from 5 l Automatic Methane Potential Test Systems in batch or semi-continuous tests using realistic inocula, substrate particle sizes and organic loading". La procedència del cocktail d'enzims fou la del Biogas Test Kit, la qual està destinada a la degradació de residus orgànics (novozymes encimi opis.pdf).

5.4.1. Els resultats obtinguts per Schroyen et al. (2015), mostraren un increment en el contingut de SSV i un alliberament dels compostos fenòlics com a conseqüència del trencament de la lignina gràcies a l'actuació de la combinació dels enzims lacasa i versàtil peroxidasa. Els autors indicaren que com més concentració de lignina hi ha en el substrat, més lenta és la descomposició del material i els valors del potencial de metà aconseguits són més baixos. Pel que fa a l'efecte temps d'actuació d'enzims, de 6 h o 24h, no es van veure efectes significatius en l'actuació d'aquests, la qual cosa indica que l'actuació hidrolítica succeeix durant les primeres hores.

L'increment de la producció de biogàs ha estat significatiu però no ha sigut excessivament alt a causa de l'elevat contingut de lignina dels materials *Miscanthus* i *Salze*. El substrat que obtingué un millor increment en el potencial de metà fou el de l'ensitjat de blat de moro; la causa, però, va ser perquè havia rebut un pretractament àcid al procés de fermentació, la qual cosa indica que amb un pretractament àcid previ a l'enzimàtic es pot incidir sobre el potencial de metà de manera significativa.

S'ha calculat un increment del 34 % i 50 % del potencial de metà estimat pel tractament de *Miscathus* i Salze quan s'han incubat durant 24 h respecte del grup control, el qual no se li aplicà ni incubació ni enzims.

5.4.2. En aquest treball s'han provat dos substrats diferents, tots dos materials amb un elevat contingut en lignocel·lulosa. L'additiu emprat ha estat Ultraflo® L.

Al treball realitzat per Pérez-Rodríguez et al. (2016) es va obtenir un valor del potencial de metà de 206,4 L CH₄/kg SV com a resultat de la hidròlisi en aplicar el preparat Ultraflo® L pel tractament del sarment de la vinya, que resultà en la millora de 59,8 % del potencial de metà. Els mateixos autors indiquen que per materials lignocel·lulòsics normalment s'obté un increment del 0 % - 34 % (Mao et al., 2015), valors que són inferiors als que s'han trobat pel sarment de la vinya.

En el cas de la panotxa de blat de moro, també s'han obtingut valors elevats del potencial de metà, 291,4 L CH₄/kg SV després del pretractament, comparat amb el cas control de 254,2 CH₄/kg SV, representant un increment del 14,6 %. Malgrat que els valors del potencial de metà han resultat ser més elevats per la panotxa de blat de moro que pel sarment de la vinya, l'increment de millora respecte del grup control fou més rellevant per aquests últims.

Els autors Pérez-Rodríguez et al. (2017) recolzen els resultats trobats per Pérez-Rodríguez et al. (2016), ja que es va observar un increment de la producció de metà sobre el mateix substrat (panotxa de blat de moro) de (289,8 ± 0,79) L CH₄/ kg SV amb l'aplicació del preparat Ultraflo®L, el qual representà un increment del 14 % respecte al tractament control. També indiquen que la combinació de tractament d'extrusió amb la hidròlisi enzimàtica del compost Ultraflo®L, poden produir millores en el potencial de metà, però en canvi el percentatge de metà obtingut és semblant a l'obtingut en aplicar el preparat. Són, per tant, consideracions que s'han de tenir en compte per determinar si la producció de metà cobreix els costos dels pretractaments d'extrusió.

Una altra dada rellevant del treball realitzat per Pérez-Rodríguez et al. (2017) és la fermentació del substrat (panotxa de blat de moro) mitjançant *Aspergillus terreus* CECT 2808, la qual es realitzà prèviament al procés de digestió anaeròbia. Els resultats obtinguts del rendiment de potencial de metà per part del fong (262,9 ± 8,50) L CH₄/ kg SV mostraren ser popers als obtinguts per la hidròlisi del preparat Ultraflo®L.

5.4.3. Al treball realitzat per Schroyen et al. (2014), el millor increment del potencial de metà (25 % més respecte del grup control) s'ha produït en aplicar l'enzim lacasa durant 24 h d'incubació prèvia al procés de digestió anaeròbia. Mentre que en el cas d'aplicar els enzims peroxidases, els autors afirmen que no s'ha trobat cap efecte de la incubació produïda durant 24 h, sinó que el màxim increment s'ha produït després de 6 h de pretractament. Per tant, els autors afirmen que el temps d'incubació és un paràmetre important que té efecte sobre la producció de metà.

Malgrat els autors Schroyen et al. (2014) han provat la combinació dels tres enzims, no s'ha observat cap sinergia entre aquests i tampoc s'ha produït un increment de la producció de biogàs que sigui superior a l'observat en aplicar els enzims de manera individual. Com es pot observar a la Taula 5.4, els increments de la combinació d'enzims s'han produït a les 6 h i 24 h.

Un dels paràmetres d'interès, que han estat avaluats per aquests autors, ha estat l'alliberament de compostos fenòlics com a conseqüència de la degradació de la lignina per l'acció dels enzims, els quals no han arribat a valors que puguin traduir-se en una inhibició per part d'aquests compostos.

5.4. Consorcis microbians de bacteris i fongs no comercials

Tal com s'ha explicat anteriorment els residus agrícoles presenten un gran potencial per ser aplicats en processos de digestió anaeròbia permetent la generació de biogàs. Per aquest motiu s'apliquen consorcis microbians obtinguts al laboratori, a partir de processos de cultius bacterians o fúngics. En aquest apartat s'expliquen alguns dels consorcis microbians de bacteris i fongs que han provat ser eficients en el procés d'hidròlisi per descompondre materials formats principalment per lignocel·lulosa.

Els autors Shen et al. (2018) han aplicat un consorci microbià, construït a partir de fonts naturals (Zhang et al., 2011), amb capacitat de degradar la cel·lulosa, per la codigestió de purins de porc i restes procedent de l'arròs en processos de digestió anaeròbia. Els resultats mostraren un increment del 62,4 % de la producció volumètrica de metà (0,64 L CH₄/L ·dia) i un 37,8 % rendiment del potencial de metà (0,456 L CH₄/g DQO_{eliminada}), en comparació amb el tractament control.

Al treball realitzat per Wen et al. (2015) es van emprar consorcis microbians per tal de millorar la degradació del farratge d'elefant. S'aplicaren 3 consorcis de diferents procedències: el primer estava format per bacteris termofílics anaerobis (*Clostridium straminisolvens*) amb capacitat de degradar la cel·lulosa. El segon consorci estava format principalment per fongs i bacteris (*Coprinus cinereus* i *Ochrobactrum* sp.). Per últim, el tercer estava compost per bacteris mesofílics del gènere *Clostridium*, *Bacteroides*, *Alcaligenes* i *Pseudomonas*. Després de la incubació a diferents temps, es va aplicar també diferents enzims procedents de Novozymes. Els resultats obtinguts respecte del potencial de metà, mostraren un increment de 1-1,5 vegades més, comparat amb el tractament control.

5.5. Síntesi

En el mercat es troben empreses que ofereixen preparats d'enzims i bacteris que han demostrat la seva capacitat per millorar el rendiment de plantes de biogàs, en ajudar en la fase de desintegració i hidròlisi. Tot i així, segons la bibliografia estudiada, la seva eficiència depèn del substrat utilitzat i les condicions de treball, de manera que no es poden estandarditzar unes eficiències determinades aplicables en qualsevol circumstància. Per a un residu determinat, o una combinació d'ells en plantes de codigestió, cal fer proves per assegurar la idoneïtat i les dosis adequades, a fi que el preparat s'apliqui en les dosis econòmicament idònies.

Capítol 6 Materials i mètodes

En aquest apartat s'expliquen els diferents materials utilitzats i les metodologies analítiques emprades durant la realització de l'assaig de biodegradabilitat anaeròbia, en el qual es comparen dos preparats comercials.

6.1. Descripció del substrat utilitzat (Purins)

La fracció líquida del purins (FLP) s'han recollit d'una bassa de 70 m² situada al municipi de Tona, a la comarca d'Osona. El temps d'emmagatzematge a la bassa fou d'aproximadament un mes. Conèixer l'edat dels purins és essencial per assegurar que es tracta d'un substrat amb una elevada concentració de matèria orgànica, ja que uns purins que hagin estat emmagatzemats durant més de 3 mesos poden provocar una reducció del potencial de producció de biogàs de fins al 75 %, fent poc sostenible el procés de digestió anaeròbia (Flotats, 2006), donant valors dels assaigs anaerobis poc interessants.

6.2. Característiques dels preparats

Per tal d'aconseguir una disminució de la DQO i de la concentració dels sòlids suspesos de la fracció líquida del purí durant en el procés de digestió anaeròbia, s'han aplicat dos tipus de preparats biològics comercials.

El primer ha estat proporcionat per l'empresa Amapex (Catalunya) dedicada al tractament d'aigües residuals en medis aerobis i remediació de sòls, de manera exitosa, a partir de l'elaboració de preparats de microorganismes liofilitzats. La web de l'empresa és la següent: <http://amapex.net>.

El preparat utilitzat en el present treball està format principalment per hidrats de carboni altament biodegradables, oligoelements i pel bacteri *Bacillus subtilis*.

L'empresa Amapex està interessada a conèixer el funcionament del preparat en sistemes de producció de biogàs, ja que en els darrers anys s'ha demostrat que *Bacillus subtilis* pot créixer en medis anaerobis, tal com s'ha descrit per Earl et al. (2008).

El segon preparat és un complex comercial enzimàtic liofilitzat, Micropan Biogas (Eurovix, Itàlia). Està format per compostos enzimàtics, bacteris anaerobis facultatius i anaerobis estrictes, tal com s'indica a la fitxa tècnica Micropan Biogas, Eurovix (2018), amb pàgina web: <http://eurovix.it>.

Les concentracions dels preparats s'han aplicat segons la recomanació de cada fabricant. Pel cas del preparat Amapex aquesta és de 1000 mg/l i en el cas del preparat d'Eurovix la dosi recomanada és de 50 mg/L. A partir de les dosis recomanades s'han realitzat tractaments a diferents concentracions, ja que en el cas d'Amapex és la primera vegada que l'utilitzen per digestió anaeròbia tractant purins i en el cas d'Eurovix no s'han trobat a la bibliografia que hagi estat emprat per tractar d'aquest substrat, així que s'ha volgut provar l'efecte d'ambdós preparats a diverses concentracions.

Aquests preparats s'han aplicat directament als vials durant la fase de muntatge, ja que es preveu que en un reactor AnSBR es puguin aplicar a l'entrada d'alimentació del digestor.

6.3. Descripció de l'inòcul

L'inòcul emprat s'ha obtingut d'una planta de codigestió anaeròbia situada al municipi de Vila-sana, de la comarca del Pla d'Urgell, de l'empresa ECOBIOGAS (www.ecobiogas.es). Consta de tres reactors CSTR en règim mesofílic, amb un temps de retenció de 60 dies. El tipus de substrat que alimenta al digestor està format principalment per materials procedents de la indústria agroalimentària i purins de porc de la granja adjacent.

La biomassa de l'inòcul ha demostrat tenir una elevada adaptabilitat a compostos tòxics polifenòlics, ja que el reactor de procedència tracta fangs de la indústria vinícola (Nayak et al., 2017).

En altres investigacions (Prenafeta-Boldú et al., 2015), on s'ha treballat amb el mateix inòcul que l'emprat en el present treball, s'ha trobat que aquest té una elevada activitat bacteriana *syntrophic acetate-oxidizing* (SAO), les quals són poblacions capaces d'oxidar l'acetat a H_2 i CO_2 en presència d'elevades concentracions d'amoniac i baixa pressió parcial d' H_2 .

S'ha emprat una malla de 0,5 mm de llum per filtrar l'inòcul i eliminar així trossos de palla i altres materials grollers que es troben en el digestor, ja que el material de procedència és molt heterogeni.

La funció principal de l'inòcul és la d'aportar de biomassa capaç de transformar la matèria orgànica del substrat en biogàs. Per tal de reduir la matèria orgànica residual que aquest pugui contenir, s'ha incubat a una temperatura de 37 °C durant aproximadament dues setmanes abans de l'inici de l'assaig.

Per a la realització del muntatge experimental s'ha preparat un vial amb inòcul i aigua anomenat blanc, tal com s'indica a la Taula 6.2. Aquest permet obtenir informació de la producció de metà endògena del substrat residual romanent de l'inòcul.

6.4. Assaig anaerobi discontinu

L'assaig de biodegradabilitat dels purins per avaluar l'efecte dels preparats comercials, s'ha realitzat en règim mesòfil a una temperatura d'incubació de 37 °C.

Tres relacions inòcul/substrat (*substrate – inoculum ratio*, SIR) diferents (1,5, 2,4 i 4) $g\ SSV_{inòcul} \cdot g\ DQO_{substrat}^{-1}$ han estat avaluades per tal de determinar la velocitat de reacció en la producció de biogàs. Valors SIR semblants han estat estudiats per Rodríguez-Abalde (2013). A l'estudi realitzat per Valldosera (2016) també s'ha treballat a diferents relacions SIR, obtenint una major producció de biogàs a valors de SIR de 4 i una millor reducció de sòlids suspesos en el cas de SIR d'1.

El volum de vials utilitzats ha estat de 120 ml, dels quals s'han omplert un total de 70 ml amb diferents volums d'inòcul, substrat i preparats (g/l) tal com s'indica a la Taula 6.2.

El volum de substrat introduït a tots els vials ha estat de 30 ml. L'única excepció ha estat el tractament blanc, on s'ha afegit inòcul i aigua destil·lada.

La composició dels macro i micronutrients afegits als vials es troben a la Taula 6.1. El volum respectiu aplicat a cada vial ha estat 872,4 µl i 87,2 µl. L'objectiu de l'addició d'aquests components és l'aportació de nutrients per no limitar l'activitat dels microorganismes.

Taula 6.1. Composició i concentració dels micro i macronutrients afegits als vials.

Micronutrients		Macronutrients	
Compost	Concentració (mg/l)	Compost	Concentració (mg/l)
CaCl ₂ · 2H ₂ O	81,79	Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	19,240
MgSO ₄ · 7H ₂ O	19,72	ZnSO ₄ · H ₂ O	0,429
FeSO ₄ · 7H ₂ O	4,60	CaCl ₂ · 6H ₂ O	0,240
KH ₂ PO ₄	1,42	MnCl ₂ · 4H ₂ O	0,990
NaHCO ₃	150,20	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O	0,1164
		NiCl ₂ · 6H ₂ O	0,190
		NaSeO ₃	0,091
		H ₃ BO ₃	0,011

S'han realitzat tres controls, un per cada relació SIR aplicat, amb l'objectiu d'avaluar l'efecte dels preparats. Aquests es corresponen amb el número de tractament 1, 12 i 13, els quals s'indiquen a la Taula 6.2.

La nomenclatura AMX. i EU. s'han emprat per anomenar els preparats Amapex i Eurovix respectivament, tal com s'observa a la Taula 6.2.

Taula 6.2. Composició dels diferents tractaments emprats en l'assaig anaerobi.

Nº	Tractament	SIR (gSSV_{inòcul}/ gDQO_{substrat})	Preparat Amapex (mg/l_{substrat})	Preparat Eurovix (mg/l_{substrat})
1	Inòcul + FLP (Control 1)	4	-	-
2	Inòcul (Blanc)	-	-	-
3	AMX. + FLP	-	1000	-
4	EU. + FLP	-	-	500
5	EU. + FLP	-	-	100
6	AMX. + Inòcul + FLP	1,5	666	-
7	AMX. + Inòcul + FLP	2,4	366	-
8	EU. + Inòcul + FLP	1,5	-	333
9	EU. + Inòcul + FLP	1,5	-	66
10	EU. + Inòcul + FLP	2,4	-	166
11	EU. + Inòcul + FLP	2,4	-	33
12	Inòcul+ FLP (Control 2)	1,5	-	-
13	Inòcul + FLP (Control 3)	2,4	-	-
1-2	FLP	-	-	-

Una vegada afegides les concentracions esmentades, s'ha procedit a introduir nitrogen gas a l'interior dels vials per tal de desplaçar l'aire, creant així un medi anaerobi idoni pel creixement dels microorganismes encarregats del procés. Posteriorment s'han tancat els vials amb septes de butil i s'han segellat amb càpsules d'alumini, simulant així les condicions d'un bioreactor anaerobi.

Per finalitzar el muntatge, s'han incubat els vials en una estufa a una temperatura de 37 °C, durant tot l'assaig. A la Figura 6.1 s'observen els vials en la cambra incubadora emprada.

S'han realitzat tres rèpliques per tots els experiments per tal d'obtenir resultats representatius. Es tracta d'un paràmetre important a l'hora d'avaluar el potencial de metà de residus orgànics per poder aconseguir l'estandardització d'aquest paràmetre, tal com es descriu al document de Holliger et al. (2016). Durant el període d'incubació s'han agitat i s'ha mesurat la producció de biogàs amb un interval de 3 a 4 dies, amb excepció de la primera setmana, per la qual ha estat mesurada diàriament. La durada de l'assaig ha estat de 72 dies i s'ha aturat en observar un increment nul o mínim en la majoria dels vials.



Figura 6.1. Cambra on s'han incubat els vials a 37 °C

El mètode emprat per la mesura del biogàs ha estat el manomètric. La mesura de la pressió continguda als vials s'ha realitzat diàriament durant la primera setmana i a partir de la segona setmana fins a la finalització de l'assaig s'han pres mesures dos cops per setmana. Els vials s'han buidat mitjançant una agulla després de cada mesura per tal d'evitar pèrdues de pressió a causa de possibles fuites de gas a l'hora de treure l'agulla, i per evitar sobrepressions en els espais de cap de vials. L'aparell emprat ha estat el pressòstat GMH 3100n Series (Greisinger, Germany). El volum de biogàs mesurat s'expressa en condicions normals (101.325 kPa, 0 °C).

6.5 Tècniques analítiques

Les anàlisis fisicoquímiques dels experiments, s'han realitzat seguint les instruccions tècniques elaborades a partir del manual *Standard Methods* (APHA et al., 2005).

Entre les analítiques realitzades es troben la determinació de: demanda química d'oxigen total (DQO_t), demanda química d'oxigen soluble (DQO_s), sòlids totals (ST), sòlids volàtils (SV), sòlids suspesos totals (SST), sòlids suspesos volàtils (SSV). Les anàlisis s'han realitzat del sobrenedant a l'inici i al final de l'assaig per veure l'evolució aquests paràmetres com a conseqüència de l'addició dels preparats.

Per l'anàlisi de la composició final del biogàs els vials s'han portat a Institut Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), situat a Caldes de Montbui, on s'han analitzat mitjançant un cromatògraf de gasos. La composició en CH₄, CO₂ i N₂ del biogàs dels diferents vials es mostra en l'Annex D.

6.5.1. Demanda química d'oxigen

Es tracta d'una mesura àmpliament utilitzada per la determinació de la concentració de matèria orgànica present en el compost a analitzar. Indica la quantitat necessària d'oxigen equivalent per tal d'oxidar la matèria orgànica present en el residu (Angelidaki et al., 2011).

La determinació d'aquest paràmetre s'ha realitzat a partir dels lots de vials subministrats pel fabricant *Hanna Instruments*, els quals contenen els reactius necessaris per portar a terme la reacció d'oxidació. D'aquesta manera s'ha introduït el volum necessari de la mostra a tractar dins els vials.

Amb l'objectiu de garantir la digestió, s'han ficat els tubs en el reactor *HI 839800 COD* (*Hanna Instruments*) (vegeu Figura 6.2), durant 2 hores a 150 °C. Una vegada finalitzat el procés s'han deixat refredar les mostres per la seva posterior lectura per espectrofotometria mitjançant l'aparell *HI 83224 Wastewater Treatment Photometer* (*Hanna Instruments*).



Figura 6.2. Reactor emprat per a la digestió de les mostres a 150 °C i determinació de DQO

6.5.2. Determinació dels sòlids totals (ST), volàtils (SV), sòlids suspesos totals (SST) i sòlids suspesos volàtils (SSV)

Per la determinació dels ST, es desseca la mostra a una estufa a 105 °C durant un temps de 24 hores, fins a obtenir un residu amb pes sec constant. A continuació es calcina la mostra a una temperatura de 550 °C durant 3,5 hores i es pesa (vegeu Figures 6.3 i 6.4). La pèrdua de pes correspon als SV i el residu restant són les cendres (Flotats i Sarquella, 2008).



Figura 6.3. Sòlids totals obtinguts després de 24 h a 150 °C



Figura 6.4. Cendres obtingudes després de 3,5 h a 550 °C.

Per la determinació dels SST i SSV, es filtra la mostra a través d'un filtre de fibra de vidre i el material que queda retintut al filtre es desseca a l'estufa a 105 °C i després es calcina a 550 °C tal com s'ha explicat per la determinació dels ST i SV anteriorment (vegeu Figura 6.5).



Figura 6.5. Filtració de les mostres per l'obtenció dels sòlids suspesos totals i volàtils

6.6. Modelització de l'evolució de la producció de metà

L'estimació dels paràmetres de la constant global de desintegració i hidròlisi k'_{dis} (d^{-1}) i la producció acumulada de metà G ($ml_{CH_4} \cdot g_{DQO}^{-1}$) s'han modelat suposant cinètiques de primer ordre, seguint l'equació:

$$G = G_o \cdot (1 - e^{-k'_{dis} \cdot t}), \quad (1)$$

on G és la producció acumulada de metà per un temps t (dies), i G_o és la producció màxima de metà per unitat de DQO inicial (Vavilin et al., 2008).

Per realitzar l'ajust s'ha utilitzat el programari Minitab. L'algoritme emprat ha estat el de Levenberg-Marquardt mitjançant regressió no lineal.

6.7. Consideracions per elaborar les dades del potencial de metà del substrat

Els preparats que s'han utilitzat en aquest treball com a pretractament biològic, a més a més de contenir microorganismes i enzims contenen matèria orgànica fàcilment biodegradable. D'aquesta, una part anirà destinada a la producció de metà i la resta servirà com a substrat per la biomassa, permetent el seu creixement.

Aquests dos aspectes han estat considerats a l'hora d'avaluar el potencial de metà, ja que l'objectiu del treball és determinar l'efecte dels preparats sobre la producció de biogàs per part del substrat, en aquest cas els purins.

Tal com s'ha comprovat en l'Annex A, "Comprovació de la correspondència de la DQO soluble amb la DQO biodegradable aportada pels preparats", la part biodegradable aportada pels preparats es correspon amb la DQO soluble, paràmetre mesurat pel servei científic-tècnic del grup GIRO de l'IRTA. És a partir d'aquest valor que s'ha avaluat el valor teòric del rendiment del metà, assumint una completa descomposició del material biodegradable aportat pels preparats.

Considerant una producció de $0,35 \text{ l CH}_4/\text{g DQO}$, en condicions normals de pressió i temperatura, s'ha mesurat el metà aportat pels preparats i a continuació s'ha calculat l'índex de conversió de

substrat en biomassa mitjançant les equacions d'avaluació de l'índex de biodegradabilitat anaeròbia (BD), emprats per Campos (2001), equacions 2 a 5.

Índex d'acidogènesi, metanogènesi i biodegradabilitat:

$$\text{Índex d'acidogènesi (\% A)} \quad A = 100 \times \frac{(DQO_{CH_4} + DQO_{AGV,final})}{DQO_{ini}} \quad (2)$$

$$\text{Índex de metanització (\% M)} \quad M = 100 \times \frac{DQO_{CH_4}}{DQO_{ini}} \quad (3)$$

$$\text{Índex de biodegradabilitat anaeròbia (\% BD)} \quad BD = \%A + \%M \quad (4)$$

$$BD = A + \frac{Y_A}{(1-Y_A)} \times (A - 100 \times \frac{DQO_{AGV,ini}}{DQO_{ini}}) + \frac{Y_M}{(1-Y_M)} \times M \quad (5)$$

On:

Y_M	Coefficient de conversió de substrat a biomassa de la població metanogènica
Y_A	Coefficient de conversió de substrat a biomassa de la població acidogènica
$DQO_{AGV,ini}$	Demanda química d'oxigen corresponent als àcids grassos volàtils inicials
DQO_{ini}	Demanda química d'oxigen inicial (substrat)
% Cel	Percentatge de la DQO destinat al creixement de biomassa de les poblacions acidogèniques i metanogèniques.
% A	Índex d'acidogènesi
% M	Índex de metanogènesi

Per calcular la fracció de substrat destinada al creixement de biomassa s'han considerat dues hipòtesis: la primera que el percentatge d'acidificació és el mateix que el de metanització, ja que la formació d'àcids és el pas previ a la formació de metà i la segona hipòtesi és que concentració inicial d'àcids grassos volàtils és nul·la. Es suposa que amb el temps de durada de l'assaig, al final d'aquest la concentració d'AGV és nul·la.

Considerant els valors obtinguts per Field et al. (1988) de $Y_M = 0.028 \text{ g DQO}_{cel} / \text{g DQO}_{consumida}$ i $Y_A = 0.196 \text{ g } \frac{DQO_{cel}}{g} \text{ DQO}_{consumida}$, s'ha calculat l'índex de conversió de substrat a biomassa, el qual ha estat de 0,273.

En calcular la desviació estàndard, s'ha considerat que el coeficient de variació obtingut mitjançant el mètode de càlcul a partir del qual s'ha realitzat l'estimació dels paràmetres G_0 i k'_{dis} , es manté constant. Aquesta suposició es realitza perquè el valor de metà sostret representa una fracció mínima comparada amb la producció de metà generada per part dels purins.

$$\text{Coeficient de variació: } CV = \frac{\sigma}{\bar{X}}$$

On:

σ Desviació estàndard

\bar{X} Mitjana calculada

CV Coeficient de variació

6.8. Avaluació estadística dels resultats

Per a l'avaluació de la bondat de les estimes dels paràmetres incògnita de l'equació 1, s'ha utilitzat el mètode de càlcul emprat per Flotats et al. (2010), el qual parteix del càlcul de la matriu de covariància de l'error de les estimes i determina diferents paràmetres que caracteritzen la bondat de l'ajust (desviació típica, intervals de confiança dels paràmetres, matriu de correlació dels paràmetres), així com el test-t de significança dels paràmetres G_0 i k'_{dis} en el model.

6.9. Comparació estadística de variàncies i mitjanes

Obtinguda la producció de metà per gram de DQO de substrat afegit, s'ha realitzat el test de comparació de dues mitjanes per detectar si l'aplicació dels preparats ha influït de manera significativa sobre el potencial de metà dels purins i sobre la constant global de desintegració i hidròlisi.

Per tal de realitzar la comparació de dues mitjanes dels paràmetres G_0 i k'_{dis} ha estat necessari primerament realitzar el test d'igualtat de dues variàncies, per poder seleccionar així el tipus de test correcte a emprar per la comparació de mitjanes. El programari utilitzat per l'anàlisi estadístic ha estat el Minitab.

Les hipòtesis per a la comparació de mitjanes han estat les següents:

- Hipòtesi nul·la: $H_0: \mu_i = \mu_j$; No hi ha diferència entre mitjanes.
- Hipòtesi alternativa: $H_1: \mu_i \neq \mu_j$; Hi ha diferències entre mitjanes.

Per tal de realitzar aquest test, prèviament s'ha realitzat el test d'igualtat de dues variàncies:

- Hipòtesi nul·la: $H_0: \sigma_i^2 = \sigma_j^2$; No hi ha diferència entre variàncies.
- Hipòtesi alternativa: $H_1: \sigma_i^2 \neq \sigma_j^2$; Hi ha diferències entre variàncies.

Els valors de i i j , fan referència al número de tractaments que es comparen, els valors dels quals estan compresos de l'1 a l'11. El nivell de significança per a la realització del test de comparació de dues mitjanes ha estat del 5 %. A l'hora d'acceptar o rebutjar la H_0 , s'ha tingut en compte el p-valor obtingut en el test de comparació de dues mitjanes calculat a partir del programari Minitab. El criteri emprat ha estat el següent:

- Si el p-valor $\leq \alpha$; es rebutja la hipòtesi nul·la, la qual cosa indica que hi ha diferències significatives entre els valors comparats.
- Si el p-valor $> \alpha$; no es pot rebutjar H_0 i s'assumeix que no hi ha diferències entre els valors comparats.

Capítol 7 Resultats i Discussió

7.1. Efecte en la producció de metà per part dels preparats sobre els purins.

A partir de les produccions del potencial de metà (G_o) estimats mitjançant el programari Minitab, s'ha sostret la part de metà aportada pels preparats, tot tenint en compte la fracció d'aquesta destinada a la formació de biomassa (veieu apartat de Materials i Mètodes). D'aquesta manera els resultats obtinguts poden ser comparables, ja que els valors que s'observen a la Taula 7.1 representen el potencial de metà obtingut per part dels purins de porc. A l'última columna de la dreta de la Taula 7.1 s'ha calculat l'increment d'aquest paràmetre respecte del grup control.

Taula 7.1. Mitjana i desviació estàndard del potencial de metà obtingut pels diferents tractaments emprats i increment relatiu respecte al tractament control.

Nom	Tractament		G_o (ml $CH_4/gDQO_{purins}$) \pm Desviació estàndard	Increment producció de biogàs (%)
	mg DQO preparat	mg/l preparat		
1_Control_FLP	-	-	150,3 \pm 2,3	-
3_Amapex	5,93	1000	169,8 \pm 2,4	12,98
4_Eurovix	1,03	500	223,6 \pm 3,3	48,83
5_Eurovix	0,21	100	230,6 \pm 1,9	53,50
6_Amapex	3,95	666	180,3 \pm 3,0	19,96
7_Amapex	2,17	366	137,5 \pm 1,4	-
8_Eurovix	0,68	333	177,5 \pm 2,1	18,12
9_Eurovix	0,16	66	240,3 \pm 3,5	59,94
10_Eurovix	0,36	166	237,3 \pm 3,8	57,90
11_Eurovix	0,08	33	227,8 \pm 3,2	51,59

Nota: Els valors que es mostren a la taula de G_o estan expressats com la mitjana i la desviació estàndard del potencial de metà dels purins. L'anotació emprada fa referència al tipus de tractament aplicat als vials.

En el present treball s'han obtingut valors compresos entre (137,5 \pm 1,4) ml $CH_4/gDQO_{purins}$ i (240,3 \pm 3,5) ml $CH_4/gDQO_{purins}$. Aquests resultats estan en concordança amb el que es van trobar per l'autora Rodríguez-Abalde (2013), qui utilitzà purins de porc com a residu i obtingué una mitjana de (113,9 \pm 4,7) ml $CH_4/gDQO_{purins}$.

En aplicar una concentració de 1000 mg/l i 666 mg/l del preparat Amapex (*Bacillus subtilis*), s'ha observat un increment en la producció de biogàs del 12,98 % i 19,96 % respectivament. Aquests valors resulten més baixos que els trobats per Zhong et al. (2011), qui obtingué una millora del rendiment del 11,28 % fins a 42,0 % en tractar palla de blat de moro mitjançant un complex microbià compost entre d'altres per *Bacillus subtilis*. Comparant els resultats obtinguts, podria ser que en el

present treball calgués una prèvia hidròlisi en condicions aeròbies per aconseguir valors propers als trobats per Zhong et al., (2011).

Amb les diferents concentracions emprades de Micropan Biogas (Eurovix), s'obtenen uns increments del rendiment del potencial de metà, respecte del grup control (sense additiu), que van des de 18,12 % fins al 59,94 %. Aquests resultats són superiors als obtinguts per Kolbl et al. (2014), qui observaren un increment de entre el 6 % i 8 % tractant residus agrícoles i municipals. Els mateixos autors indiquen que els resultats obtinguts foren inferiors als observats en un assaig previ d'un treball no publicat en afegir Micropan Biogas com a pretractament.

En altres treballs on s'ha aplicat el preparat d'Eurovix, s'ha observat una millora del rendiment de producció de metà del 18 % (Kolbl et al., 2017), tractant polpa de paper deshidratada procedent de la fabricació de paper. Aquests rendiments, tot i ser superiors als obtinguts a la bibliografia per Kolbl et al. (2014), són inferiors als trobats en el present treball tractant purins.

L'increment del rendiment de potencial de metà del 59 %, obtingut en aplicar el preparat de l'empresa Eurovix, podria ser degut al tipus de substrat emprat, en aquest cas purins de porc o bé a una bona sinergia amb l'inòcul que afavorí la descomposició del substrat.

7.1.1. Comparació de mitjanes del paràmetre G_o

A continuació s'ha realitzat la comparació de mitjanes dels diferents tractaments per detectar si hi ha diferències significatives en els preparats aplicats sobre el valor de G_o .

7.1.2. Test de comparació de dues variàncies

A continuació queden representats a la Taula 7.2 els valors de la comparació de variàncies per cada tractament respecte del grup control, pel qual s'avalua la producció de metà sense l'addició de cap preparat.

Taula 7.2. Comparació de variàncies respecte del grup control

Test de comparació de variàncies (G_o)	p-valor	Hipòtesi que s'accepta
3_Amapex (5,93 mg DQO)	0,961	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_3^2 = 0$
4_Eurovix (1,03 mg DQO)	0,648	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_4^2 = 0$
5_Eurovix (0,21 mg DQO)	0,833	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_5^2 = 0$
6_Amapex (3,95 mg DQO)	0,751	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_6^2 = 0$
1_Control vs. 7_Amapex (2,17 mg DQO)	0,557	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_7^2 = 0$
8_Eurovix (0,68 mg DQO)	0,915	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_8^2 = 0$
9_Eurovix (0,16 mg DQO)	0,603	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_9^2 = 0$
10_Eurovix (0,36 mg DQO)	0,545	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_{10}^2 = 0$
11_Eurovix (0,08 mg DQO)	0,673	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_{11}^2 = 0$

Nota: Totes les comparacions tant de variàncies com les de mitjanes s'han realitzat amb un nivell de confiança del 95%.

A partir dels resultats representats a la Taula 7.2, queda acceptada la hipòtesi nul·la (H_0) i per tant s'assumeix igualtat de variàncies per a totes les comparacions realitzades, ja que el valor del p-valor és més gran que α , del 0,05.

7.1.2. Test de comparació de dues mitjanes

A la Taula 7.3 s'observen els p-valors obtinguts de la realització del test de comparació de mitjanes per cada prova respecte del grup control. En tots els casos s'ha considerat la igualtat de variàncies obtinguda a l'apartat anterior. Per a la realització del test de comparació de mitjanes, s'han emprat els valors de les mitjanes del potencial de metà que es troben a la Taula 7.1.

Taula 7.3. Test de comparació de mitjanes del paràmetre Go respecte del grup control

Test de comparació de mitjanes (Go)	p-valor	Hipòtesi que s'accepta	Diferència de mitjanes (Go) (<i>ml CH₄/gDQO_{purins}</i>)	
1_Control vs.	3_Amapex (5,9307 mg DQO)	0,001	$H_1: \mu_1 - \mu_3 \neq 0$	-19,51
	4_Eurovix (1,0268 mg DQO)	0,000 ³	$H_1: \mu_1 - \mu_4 \neq 0$	-73,37
	5_Eurovix (0,2145 mg DQO)	0,000	$H_1: \mu_1 - \mu_5 \neq 0$	-80,39
	6_Amapex (3,9538 mg DQO)	0,000	$H_1: \mu_1 - \mu_6 \neq 0$	-30,0
	7_Amapex (2,1746 mg DQO)	0,001	$H_1: \mu_1 - \mu_7 \neq 0$	12,77
	8_Eurovix (0,6846 mg DQO)	0,000	$H_1: \mu_1 - \mu_8 \neq 0$	-27,22
	9_Eurovix (0,1620 mg DQO)	0,000	$H_1: \mu_1 - \mu_9 \neq 0$	-90,07
	10_Eurovix (0,3560 mg DQO)	0,000	$H_1: \mu_1 - \mu_{10} \neq 0$	-87,00
	11_Eurovix (0,0799 mg DQO)	0,000	$H_1: \mu_1 - \mu_{11} \neq 0$	-77,52

Comparant el potencial de metà de cada tractament respecte del grup control, pel qual no s'ha considerat l'efecte de l'addició de preparats, s'observa que hi ha diferències significatives, ja que el p-valor és més petit que α , es rebutja per tant H_0 . S'observa que els preparats tenen algun efecte a l'hora d'avaluar la producció de metà. En el següent apartat es determina quina és la concentració a aplicar de cada preparat perquè resulti en una millora de la producció de biogàs.

A partir de les diferències de mitjanes del paràmetre Go de la Taula 7.3, s'observa una millora significativa en la producció de biogàs per tots els tractaments, excepte quan s'aplica el tractament 7, on hi ha una reducció significativa en el rendiment de metà comparat amb el cas control. En aplicar 2,17 mg DQO del preparat Amapex es produeix aquesta reducció del potencial de metà. És

³ El p-valor obtingut mai és un valor zero com el que es mostra a la taula, sinó que és molt proper a zero però el programari Minitab només presenta 3 decimals.

a dir, a concentracions baixes del preparat Amapex no s'observen millores en l'increment de producció de metà.

7.2. Avaluació de l'efecte de les diferents concentracions de preparats aplicades per determinar quina és la concentració més eficient pel que fa a la millora de Go.

Les concentracions aplicades de cada preparat han variat segons el tractament aplicat, per aquest motiu, en aquest apartat es determina quina és la concentració de cada preparat que millora el rendiment de la producció de metà del substrat. La metodologia emprada ha estat la mateixa que l'explicada en el cas anterior, la qual consisteix en la formulació de test d'hipòtesis per determinar si els efectes dels preparats són significatius.

7.2.1. Amapex

En aquest apartat es determina la dosi òptima del preparat Amapex emprada per aconseguir el major potencial de metà.

7.2.1.1. Test de comparació de variàncies

A la Taula 7.4 es mostren els resultats obtinguts de la comparació de variàncies quan es comparen les tres concentracions de preparat emprat.

Taula 7.4. Test de comparació de variàncies a diferents concentracions emprades del preparat Amapex

Test de comparació de variàncies (Go)	p-valor	Hipòtesi que s'accepta
3_Amapex (5,93 mg DQO) vs. 6_Amapex (3,95 mg DQO)	0,788	$H_0: \sigma_3^2 - \sigma_6^2 = 0$
3_Amapex (5,93 mg DQO) vs. 7_Amapex (2,17 mg DQO)	0,526	$H_0: \sigma_3^2 - \sigma_7^2 = 0$
6_Amapex (3,95 mg DQO) vs. 7_Amapex (2,17 mg DQO)	0,377	$H_0: \sigma_6^2 - \sigma_7^2 = 0$

Tal com mostren els resultats de la Taula 7.4, s'assumeix igualtat de variàncies i es procedeix a la realització de la comparació de mitjanes, ja que el p-valor és més gran que el nivell de significança.

7.2.1.2. Test de comparació de mitjanes

Per a la comparació de mitjanes de la producció de metà de les tres concentracions emprades del preparat Amapex, s'ha considerat igualtat de variàncies. Els resultats del test es mostren a la Taula 7.5.

Taula 7.5. Test de comparació de mitjanes a diferents concentracions emprades del preparat Amapex

Test de comparació de mitjanes (Go)	p-valor	Hipòtesi que s'accepta	Diferència de mitjanes (Go) ($ml\ CH_4/g\ DQO_{purins}$)
3_Amapex (5,93 mg DQO) vs. 6_Amapex (3,95 mg DQO)	0,009	$H_1: \mu_3 - \mu_6 \neq 0$	-10,49
3_Amapex (5,93 mg DQO) vs. 7_Amapex (2,17 mg DQO)	0,000	$H_1: \mu_3 - \mu_7 \neq 0$	32,27
6_Amapex (3,95 mg DQO) vs. 7_Amapex (2,17 mg DQO)	0,000	$H_1: \mu_6 - \mu_7 \neq 0$	42,77

Gràcies al fet que el p-valor és més petit a α , es rebutja la hipòtesi nul·la i s'accepta la hipòtesi alternativa, la qual indica que hi ha diferències significatives pels tres tipus de concentracions de preparats aplicats per tots tres casos.

Considerant les diferències de les mitjanes, s'observa una major producció de biogàs pel tractament 6, on s'ha aplicat 3,95 mg DQO de preparat, la producció de la qual és de $(180,3 \pm 3,0)\ ml\ CH_4/g\ DQO_{purins}$.

Seguidament s'observa que el tractament 3 proporciona també bons resultats, encara que menors al tractament 6, amb una producció de biogàs de $(169,7 \pm 2,4)\ ml\ CH_4/g\ DQO_{purins}$.

Finalment s'obté el rendiment més baix en aplicar el tractament 7, que resulta en una producció de $(137,5 \pm 1,4)\ ml\ CH_4/g\ DQO_{purins}$. Aquest és l'únic tractament que disminueix el potencial de metà de manera significativa comparat amb el grup control.

7.2.2. Eurovix

S'han realitzat les comparacions entre els casos on s'han observat una major producció de metà aplicant el preparat Eurovix (tractaments 5, 9 i 10), per tal de d'observar si les diferències són significatives i detectar a quina concentració de preparat es produeix aquest efecte.

7.2.2.1. Test de comparació de variàncies

A la Taula 7.6 s'observen els resultats obtinguts del test de variàncies en comparar els tractaments pels quals s'han observat valors de potencial de metà elevats.

Taula 7.6. Test de comparació de variàncies a diferents concentracions emprades del preparat Eurovix

Test de comparació de variàncies (Go)	p-valor	Hipòtesi que s'accepta
9_Eurovix (0,16 mg DQO) vs. 10_Eurovix (0,36 mg DQO)	0,930	$H_0: \sigma_9^2 - \sigma_{10}^2 = 0$
9_Eurovix (0,16 mg DQO) vs. 5_Eurovix (0,21 mg DQO)	0,471	$H_0: \sigma_9^2 - \sigma_5^2 = 0$

Com que el p-valor és més gran que α , s'accepta H_0 , és a dir igualtat de variàncies.

7.2.2.2. Test de comparació de mitjanes

A continuació s'ha realitzat la comparació de mitjanes per tal d'avaluar a quina concentració de preparat s'aconsegueix una millor producció de metà.

Primerament s'ha realitzat la comparació de mitjanes pels tractaments 9 i 10 per detectar si hi ha diferències significatives entre els tractaments emprats. Tal com s'observa a la Taula 7.7, el p-valor obtingut en el test és més gran que α , per tant s'accepta H_0 , indicació de què no es detecten diferències significatives entre els tractaments 9 i 10 on s'han aplicat 0,16 mg DQO i 0,36 mg DQO del preparat Eurovix respectivament.

Taula 7.7. Test de comparació de mitjanes a diferents concentracions emprades del preparat Eurovix

Test de comparació de mitjanes (Go)	p-valor	Hipòtesi que s'accepta	Diferència de mitjanes (Go) ($ml\ CH_4/g\ DQO_{purins}$)
9_Eurovix (0,16 mg DQO) vs. 10_Eurovix (0,36 mg DQO)	0,360	$H_0: \mu_9 - \mu_{10} = 0$	3,07
9_Eurovix (0,16 mg DQO) vs. 5_Eurovix (0,21 mg DQO)	0,014	$H_1: \mu_9 - \mu_5 \neq 0$	9,67

Per tal de seguir amb les comparacions s'ha utilitzat el tractament 9, ja que s'ha aplicat una dosi de preparat més baixa, cosa que es tradueix en un estalvi econòmic.

Comparant les mitjanes dels tractaments 9 i 5, s'ha obtingut un p-valor més baix que α , es rebutja H_0 i s'assumeix que hi ha diferències significatives en la producció de metà per aquests casos. La diferència de 9,67 indica que hi ha una major producció pel tractament 9, pel qual s'obté un rendiment del potencial de metà de $(240,3 \pm 3,5)\ ml\ CH_4/g\ DQO_{purins}$.

7.3. Comparació de la dosi més efectiva tant pel preparat Amapex com Eurovix

Una vegada s'ha obtingut la dosi més efectiva de cada preparat, es procedeix a avaluar aquestes dues per tal d'observar si hi ha diferències significatives entre elles.

7.3.1. Test de comparació de variàncies

A la Taula 7.8 s'observa el resultat del test de comparació de variàncies pels preparats Eurovix i Amapex.

Taula 7.8. Test de comparació de variàncies dels preparats Amapex i Eurovix.

Test de comparació de variàncies (Go)	p-valor	Hipòtesi que s'accepta
6_Amapex (3,95 mg DQO) vs. 9_Eurovix (0,16 mg DQO)	0,835	$H_0: \sigma_6^2 - \sigma_9^2 = 0$

S'accepta H_0 , considerant igualtat de variàncies.

7.3.2. Test de comparació de mitjanes

A la Taula 7.9 s'observa el resultat del test de comparació de mitjanes pels preparats Eurovix i Amapex.

Taula 7.9. Test de comparació de mitjanes dels preparats Amapex i Eurovix

Test de comparació de mitjanes (Go)	p-valor	Hipòtesi que s'accepta	Diferència de mitjanes (Go) ($ml\ CH_4/gDQO_{purins}$)
6_Amapex (3,95 mg DQO) vs. 9_Eurovix (0,16 mg DQO)	0,000	$H_1: \mu_6 - \mu_9 \neq 0$	-60,07

S'observen diferències significatives quan es comparen les millors concentracions obtingudes de cadascun dels preparats. Valorant la diferència de mitjanes, s'observa que el millor efecte es produeix en aplicar el tractament 9 (0,16 mg DQO), el qual es correspon amb el preparat Eurovix i genera una producció de $(240,3 \pm 3,53)\ ml\ CH_4/gDQO_{purins}$, que es tradueix en un increment de del 59 % del potencial de producció de metà.

7.4. Comparació de mitjanes del paràmetre k'_{dis}

En aquest apartat s'avalua el segon paràmetre d'interès, el qual és la velocitat de reacció del procés, per tal de conèixer quin és l'efecte dels preparats sobre aquesta.

Igual que en l'apartat anterior s'ha realitzat el test de variàncies i el test de comparació de mitjanes per detectar les diferències que puguin haver-hi.

Taula 7.10. Mitjana i desviació estàndard de la velocitat de reacció dels diferents tractaments i coeficient de determinació

Nom	Tractament		$k'_{dis}(dia^{-1}) \pm$ Desviació estàndard	Coeficient de determinació r^2
	mg DQO	mg/l		
1_Control_FLP	-	-	$0,091 \pm 0,006$	0,9498
3_Amapex	5,93	1000	$0,076 \pm 0,004$	0,9629
4_Eurovix	1,03	500	$0,069 \pm 0,00$	0,9637
5_Eurovix	0,21	100	$0,061 \pm 0,002$	0,9904
6_Amapex	3,95	666	$0,087 \pm 0,006$	0,9417
7_Amapex	2,17	366	$0,145 \pm 0,008$	0,9651
8_Eurovix	0,68	333	$0,070 \pm 0,003$	0,9759
9_Eurovix	0,16	66	$0,047 \pm 0,002$	0,9828
10_Eurovix	0,36	166	$0,050 \pm 0,002$	0,9769
11_Eurovix	0,08	33	$0,051 \pm 0,002$	0,9806

Els valors trobats de la constant de desintegració pels diferents tractaments emprats en el present treball (vegeu Taula 7.10) es troben dins el rang de 0,047 dia⁻¹ fins a 0,145 dia⁻¹. Aquests resultats concorden amb els referenciats en el treball de Vavilin et al. (2008), on s'indica un valor de k'_{dis} de 0,1 dia⁻¹ per la descomposició de purins de porc. L'autora Rodríguez-Abalde (2013), qui va treballar amb el mateix tipus de substrat, va obtenir valors per la k'_{dis} de $(0,405 \pm 0,064)$ dia⁻¹, els quals són considerablement més elevats que els observats en el present treball. Fins i tot quan s'ha emprat un preparat enzimàtic i biològic amb l'objectiu d'incidir sobre l'etapa d'hidròlisi i millorar la velocitat de descomposició del substrat, la k'_{dis} màxima observada ha estat de $(0,145 \pm 0,008)$ dia⁻¹, la qual és lleugerament superior al tractament control de $(0,091 \pm 0,006)$ dia⁻¹.

7.4.1.1. Test de comparació de variàncies

A la Taula 7.11 s'ha realitzat el test de comparació de variàncies del paràmetre de velocitat de reacció per cada tractament respecte del grup control, per tal d'avaluar si hi ha diferències significatives en la velocitat de reacció en els tractaments emprats comparats amb el cas control.

Taula 7.11. Comparació de variàncies respecte del grup control i p-valors obtinguts.

Test de comparació de variàncies (k'_{dis})	p-valor	Hipòtesis que s'accepta
3_Amapex (5,93 mg DQO)	0,654	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_3^2 = 0$
4_Eurovix (1,03 mg DQO)	0,560	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_4^2 = 0$
5_Eurovix (0,21 mg DQO)	0,155	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_5^2 = 0$
6_Amapex (3,95 mg DQO)	0,994	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_6^2 = 0$
1_Control vs. 7_Amapex (2,17 mg DQO)	0,710	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_7^2 = 0$
8_Eurovix (0,68 mg DQO)	0,413	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_8^2 = 0$
9_Eurovix (0,16 mg DQO)	0,185	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_9^2 = 0$
10_Eurovix (0,36 mg DQO)	0,259	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_{10}^2 = 0$
11_Eurovix (0,08 mg DQO)	0,228	$H_0: \sigma_1^2 - \sigma_{11}^2 = 0$

S'accepta igualtat de variàncies per tots els tractaments comparats amb el grup control, ja que el p-valor és més gran que α .

7.4.1.2. Test de comparació de mitjanes

S'ha realitzat el test de comparació de mitjanes del paràmetre de velocitat de reacció per cada tractament respecte del grup control. El valor de les mitjanes emprat per a la realització del test ha estat a partir dels valors que es troben a la Taula 7.10.

Taula 7.12. Test de comparació de mitjanes del paràmetre k'_{dis} respecte del grup control

Test de comparació de mitjanes (k'_{dis})	p-valor	Hipòtesi que s'accepta	Diferència de mitjanes (k'_{dis}) (dia^{-1})
3_Amapex (5,93 mg DQO)	0,027	$H_1: \mu_1 - \mu_3 \neq 0$	0,015
4_Eurovix (1,03 mg DQO)	0,007	$H_1: \mu_1 - \mu_4 \neq 0$	0,022
5_Eurovix (0,21 mg DQO)	0,001	$H_1: \mu_1 - \mu_5 \neq 0$	0,030
6_Amapex (3,95 mg DQO)	0,480	$H_0: \mu_1 - \mu_6 = 0$	0,000
1_Control vs. 7_Amapex (2,17 mg DQO)	0,001	$H_1: \mu_1 - \mu_7 \neq 0$	-0,054
8_Eurovix (0,68 mg DQO)	0,007	$H_1: \mu_1 - \mu_8 \neq 0$	0,021
9_Eurovix (0,16 mg DQO)	0,000	$H_1: \mu_1 - \mu_9 \neq 0$	0,044
10_Eurovix (0,36 mg DQO)	0,000	$H_1: \mu_1 - \mu_{10} \neq 0$	0,041
11_Eurovix (0,08 mg DQO)	0,000	$H_1: \mu_1 - \mu_{11} \neq 0$	0,040

Del resultat del test de comparació de mitjanes, pel paràmetre de velocitat de reacció (k'_{dis}), s'assumeix que hi ha diferències significatives gairebé per tots els tractaments, a excepció del tractament 6, pel qual no s'han observat diferències significatives en comparació amb el tractament control. És a dir, per aquest últim cas s'accepta la H_0 i s'assumeix que no hi ha diferències entre els resultats obtinguts pel tractament 6 i el grup control.

Els resultats obtinguts del test estadístic indiquen que l'addició de la majoria de preparats no es tradueix en una millora en la velocitat del procés. L'única excepció ha estat la del tractament 7, en el qual sí que s'ha observat una millora en la velocitat de reacció respecte al grup control.

En definitiva, s'ha observat una millora en el paràmetre k'_{dis} , respecte al grup control, en aplicar-se el preparat Amapex. Aquest increment s'ha observat quan la dosi de tractament emprada ha estat la més baixa dels tres tractaments emprats. És a dir, amb la dosi de 2,17 mg DQO del preparat Amapex s'ha produït una millora en la velocitat del procés, la qual es tradueix en un increment del 59 % respecte al grup control. Per tant, s'ha observat que quan menys dosi s'empra del preparat Amapex augmenta la velocitat de descomposició però no millora el potencial de producció final de metà.

7.5. Resultat de les analítiques

A continuació es mostren els resultats de les analítiques realitzades per a cada tractament a l'inici i al final del procés., les quals s'han realitzat amb l'objectiu d'observar l'efecte produït pels dos tipus de preparats comercials assajats. Les analítiques realitzades han estat: DQO total del sobrenedant (fracció líquida), DQO soluble de la mostra, ST, SV, SST i SSV.

7.5.1. DQO total del sobrenedant

A la taula següent s'observa la reducció de la DQO del sobrenedant, ja que tal com s'ha explicat anteriorment, un dels objectius del treball és el de determinar la reducció de la descomposició de la matèria orgànica d'aquesta fracció com a conseqüència de l'addició dels preparats enzimàtics emprats, de les cases Amapex i Eurovix.

Taula 7.13. Mitjana de la DQO inicial i final del sobrenedant i percentatge de reducció d'aquest paràmetre en els diferents tractaments emprats.

Nº	Tractament	SIR (gSSV _{inòcul} / gDQO _{substrat})	DQO _{inicial} (mg/l)	DQO _{final} (mg/l)	Reducció (%)
1	Inòcul + FLP (Control 1)	4	6537,00	5111,33	21,81
2	Inòcul (Blanc)	-	1738,00	3523,67	-102,74
3	AMX. + FLP	-	1604,33	1103,33	31,23
4	EU. + FLP	-	1454,00	1103,67	24,09
5	EU. + FLP	-	1493,00	1059,00	29,07
6	AMX. + Inòcul + FLP	1,5	2458,67	1840,33	25,15
7	AMX. + Inòcul + FLP	2,4	3568,67	2948,00	17,39
8	EU. + Inòcul + FLP	1,5	2323,33	2149,00	7,50
9	EU. + Inòcul + FLP	1,5	2395,67	2128,67	11,15
10	EU. + Inòcul + FLP	2,4	3369,33	3250,67	3,52
11	EU. + Inòcul + FLP	2,4	3197,00	3384,00	-5,85
12	Inòcul+ FLP (Control 2)	1,5	2406,67	2191,33	8,95
13	Inòcul + FLP (Control 3)	2,4	3266,00	3208,00	1,78

Es pot observar una reducció del 1,78 % al 31,23 % sobre el paràmetre de la DQO del sobrenedant, en avaluar els diferents tractaments aplicats.

S'observa una major reducció de la DQO pels tractaments 3, 4 i 5, en els quals no s'ha afegit inòcul per ajudar a la descomposició del substrat, sinó que s'han aplicat els preparats formats per enzims i bacteris hidrolítics directament sobre el substrat.

Pels següents tractaments s'ha procedit a la comparació d'aquests en funció de la relació SIR aplicada, és a dir que s'han comparat els tractaments amb els controls SIR de 1,5 i 3,4 els quals es corresponen amb els tractaments 12 i 13 respectivament.

Respecte al grup control 2 (tractament 12), pel qual s'ha obtingut una reducció del 8,98 % de DQO, hi ha hagut una millora en la reducció de la matèria orgànica com a conseqüència de l'aplicació dels preparats: tractaments 6, 8 i 9 amb una reducció del 25 %, 15 %, 7,50 % i 11,15 % respectivament.

S'observa una reducció del 1,78 % pel control 3 (tractament 13). En afegir el preparat d'Amapex (tractament 7), s'observa una reducció del 17,39 %. Es produeix per tant un efecte positiu en la reducció de la DQO en aplicar 366 mg/l del preparat Amapex amb una relació SIR de 2,4.

Un fet estrany és l'increment de la DQO observat en els tractaments 2 i 11. Aquest fet atípic pot ser a causa de la dinàmica de l'inòcul i podria correspondre's a una resuspensió de les partícules més petites (col·loïdals) que no poden sedimentar. Un augment de la concentració de SST en el sobrenedant conforme la mida de les partícules es reduïa per sota de 20 µm ja va ser observat per Valldosera (2016).

7.5.2. DQO soluble

Els resultats inicials obtinguts de la determinació de la DQO soluble inicial tenien poca coherència. A causa d'aquest fet s'ha calculat la DQO soluble a partir dels resultats analítics obtinguts pel servei científic-tècnic de l'IRTA. Aquests han estat els valors utilitzats en l'elaboració dels resultats, els quals corresponen a la columna de DQO soluble ^{inicial}, de la Taula 7.14.

La reducció de la DQO soluble pels diferents tractaments aplicats va des del 50,63 % fins a 73,74 %. Igual que en el cas anterior, hi ha hagut una major reducció quan s'han aplicat els preparats directament sobre el substrat, sense la intervenció de l'inòcul. De tota manera, ja no apareixen les incoherències d'un augment de la DQO total en el sobrenedant per alguns tractaments, donant força a la hipòtesi que la mida de les partícules en suspensió pot afectar a les mesures de la DQO, mentre que això no és així quan es determina la DQO soluble.

La reducció més baixa s'ha trobat pel cas control 1 (tractament 1) la qual és del 50,63 %.

Una reducció del 20 % ha estat observada en el tractament blanc, corresponent a l'activitat de l'inòcul.

Malgrat s'han aconseguit elevades reduccions compreses entre el 51,83 % i 73,74 % del paràmetre de la DQO soluble, gràcies a l'efecte dels preparats, els valors obtinguts de l'efluent continuen sent bastant elevats, per tal qual cosa s'han de continuar realitzant estudis per tal d'aconseguir una reducció considerable d'aquest paràmetre.

Taula 7.14. Mitjana de la concentració de la DQO soluble a l'inici i final de l'assaig i percentatge de reducció d'aquest paràmetre.

Nº	Tractament	SIR (gSSV _{inòcul} / gDQO _{substrat})	DQO soluble inicial (mg/l)	DQO soluble final (mg/l)	Reducció (%)
1	Inòcul + FLP (Control 1)	4	7203,57	3556,67	50,63
2	Inòcul (Blanc)	-	3484,00	2763,67	20,68
3	AMX. + FLP	-	3804,13	999,00	73,74
4	EU. + FLP	-	3731,31	1044,67	72,00
5	EU. + FLP	-	3725,70	1060,67	71,53
6	AMX. + Inòcul + FLP	1,5	5167,00	1646,67	68,13
7	AMX. + Inòcul + FLP	2,4	5974,58	2628,00	56,01
8	EU. + Inòcul + FLP	1,5	5096,53	1705,33	66,54
9	EU. + Inòcul + FLP	1,5	5042,75	1706,67	66,16
10	EU. + Inòcul + FLP	2,4	5933,71	2460,00	58,54
11	EU. + Inòcul + FLP	2,4	5905,29	2844,67	51,83
12	Inòcul+ FLP (Control 2)	1,5	5026,07	1754,67	65,09
13	Inòcul + FLP (Control 3)	2,4	5897,07	2790,00	52,69

7.5.3. SST i SSV del sobrenedant

A la Taula 7.15 es troben els resultats de les analítiques realitzades per a la determinació de SST i SSV de la part del sobrenedant. Les mostres corresponen a la fracció líquida obtinguda després de deixar sedimentar el sobrenedant durant un parell de dies.

Taula 7.15. Mitjana dels valors de SST i SSV inicials i finals del sobrenedant i percentatge de reducció d'aquest paràmetre.

Nº	Tractament	SST _{inicial} (% en pes)	SST _{final} (% en pes)	Reducció SST (%)	SSV _{inicial} (% en pes)	SSV _{final} (% en pes)	Reducció SSV (%)
1	Inòcul+FLP (Control 1)	0,0860	0,2423	-181,87 ⁴	0,0817	0,1712	-109,51
2	Inòcul (Blanc)	0,0564	0,1204	-113,38	0,0498	0,1079	-116,63
3	AMX. + FLP	0,0509	0,0476	6,52	0,0509	0,0421	17,26
4	EU. + FLP	0,0365	0,0618	-69,40	0,0365	0,0530	-45,20
5	EU. + FLP	0,0463	0,0536	-15,87	0,0463	0,0468	-1,22
6	AMX. + Inòcul + FLP	0,0601	0,1038	-72,81	0,0601	0,0868	-44,52
7	AMX. + Inòcul + FLP	0,0791	0,1304	-64,76	0,0766	0,1045	-36,49
8	EU. + Inòcul + FLP	0,0601	0,0755	-25,72	0,0500	0,0635	-27,01
9	EU. + Inòcul + FLP	0,0783	0,0707	9,74	0,0689	0,0521	24,34
10	EU. + Inòcul + FLP	0,0604	0,0953	-57,84	0,0516	0,0834	-61,60
11	EU. + Inòcul + FLP	0,0414	0,1095	-164,47	0,0335	0,0912	-172,29
12	Inòcul+FLP(Control 2)	0,0477	0,0590	-23,66	0,0477	0,0524	-9,72
13	Inòcul+FLP(Control 3)	0,0515	0,0866	-68,18	0,0489	0,0731	-49,44

Dels resultats de les analítiques, que es troben a la Taula 7.15, s'observa pels tractaments 3, 4, 5 i 6 que els valors dels sòlids suspesos volàtils inicials es corresponen amb els valors dels sòlids suspesos totals inicials. Aquest fet indica que inicialment pels tractaments mencionats tots els sòlids suspesos es troben en forma de compostos volàtils.

En els resultats de les analítiques s'observa que només hi ha hagut una reducció dels SST i SSV en els tractaments 3 i 9. Les reduccions pels tractaments han estat del 6,52 % en SST i 17,26 % en SSV pel tractament 3, pel qual s'ha emprat 5,93 mg DQO del preparat Amapex. Pel que fa al tractament 9 s'ha observat una reducció del 9,74 % en quant a SST i una reducció del 24,34 % de SSV en aplicar 0,16 mg DQO del preparat Eurovix.

⁴ Els valors expressats en números negatius indiquen un augment en la concentració dels paràmetres: SV, ST, SSV i SST mesurats.

Per la resta de tractaments s'observa, a partir dels valors obtinguts, que no hi ha hagut una reducció dels SST ni dels SSV. Aquest fet resulta ser molt atípic i podria ser degut a fenòmens de resuspensió de partícules petites o bé a causa d'errors experimentals. Resultats semblants van ser trobats per Valldosera (2016) i farien notar la dificultat d'obtenir un sobrenedant amb baixa concentració de SST malgrat obtenir una reducció significativa en la mida de partícula.

7.5.4. SST i SSV de tota la mostra

A continuació s'observen les dades obtingudes de la realització de la mesura dels SST i SSV globals en els vials, a l'inici i al finalitzar el procés de digestió anaeròbia sense decantació.

Taula 7.16. Mitjana dels paràmetres SST i SSV a l'inici i al final de l'assaig anaerobi i percentatge de reducció observat.

Nº	Tractament	SST _{inicial} (% en pes)	SST _{final} (% en pes)	Reducció (%)	SSV _{inicial} (% en pes)	SSV _{final} (% en pes)	Reducció (%)
1	Inòcul + FLP (Control 1)	3,2781	3,5946	-9,66	2,3767	2,3498	1,13
2	Inòcul (Blanc)	2,4183	2,7822	-15,05	1,8259	1,8955	-3,81
3	AMX. + FLP	0,5506	0,4376	20,51	0,4136	0,2805	32,17
4	EU. + FLP	1,0201	0,9027	11,51	0,6770	0,5200	23,20
5	EU. + FLP	0,7559	0,7864	-4,04	0,5024	0,4551	9,40
6	AMX. + Inòcul + FLP	1,5293	1,7604	-15,11	1,1062	1,1268	-1,86
7	AMX. + Inòcul + FLP	2,2256	2,7172	-22,09	1,5722	1,7527	-11,48
8	EU. + Inòcul + FLP	1,6852	1,8839	-11,79	1,1732	1,2010	-2,37
9	EU. + Inòcul + FLP	1,4718	1,9866	-34,98	1,0364	1,2246	-18,16
10	EU. + Inòcul + FLP	2,2830	2,7376	-19,91	1,5790	1,7404	-10,23
11	EU. + Inòcul + FLP	2,3372	2,8612	-22,42	1,6285	1,7953	-10,24
12	Inòcul+ FLP (Control 2)	1,6418	2,1028	-28,08	1,1239	1,2994	-15,61
13	Inòcul + FLP (Control 3)	2,4172	2,6806	-10,90	1,6492	1,7088	-3,61

Els resultats que s'obtenen són atípics, ja que només hi ha reducció dels sòlids suspesos volàtils en aquells casos que no contenen inòcul (tractament 3,4 i 5), on s'ha aplicat el preparat directament sobre el substrat. En la resta de tractaments hi ha un increment dels sòlids suspesos totals i volàtils. Tal com s'ha explicat anteriorment, pels resultats obtinguts de l'anàlisi del sobrenedant, aquest fet pot ser a causa de les dinàmiques de l'inòcul pel que fa a la resuspensió de partícules petites, o bé pot ser degut a errors a l'hora de realitzar les mesures. En tot cas, l'inòcul afecta la dinàmica del SST

i SSV i caldrà tenir-ho en compte en futurs experiments, a fi d'utilitzar un inòcul homogeni i procedent d'un reactor AnSBR, en lloc d'un reactor de codigestió amb substrats heterogenis.

7.5.5. ST i SV de la mostra

A la Taula 7.17 s'observen els valors obtinguts de l'anàlisi dels ST i SV de les diferents mostres a tractar al començament i en finalitzar l'assaig.

La mesura dels sòlids volàtils (SV) és un indicador de la matèria orgànica present en el residu (Flotats i Sarquella, 2008), la qual serà transformada en biogàs per l'acció dels microorganismes anaerobis.

Taula 7.17. Mitjana dels paràmetres ST i SV inicials i finals de l'assaig anaerobi i percentatge de reducció observat.

Nº	Tractament	SIR (gSSV _{inòcul} / gDQO _{substrat})	ST _{inicial} (% en pes)	ST _{final} (% en pes)	Reducció (%)	SV _{inicial} (% en pes)	SV _{final} (% en pes)	Reducció (%)
1	Inòcul + FLP (Control 1)	4	3,9265	3,9374	-0,28	2,6395	2,4116	8,63
2	Inòcul (Blanc)	-	2,8265	3,0175	-6,76	1,9550	1,9552	-0,01
3	AMX. + FLP	-	0,8541	0,6712	21,41	0,4937	0,3248	34,21
4	EU. + FLP	-	1,4212	1,1543	18,78	0,8346	0,5812	30,37
5	EU. + FLP	-	1,0265	1,0228	0,36	0,5913	0,5104	13,67
6	AMX. + Inòcul + FLP	1,5	2,0286	2,0377	-0,45	1,2811	1,1689	8,75
7	AMX. + Inòcul + FLP	2,4	2,7934	3,0101	-7,76	1,8122	1,7943	0,99
8	EU. + Inòcul + FLP	1,5	2,1077	2,1469	-1,86	1,3250	1,2379	6,58
9	EU. + Inòcul + FLP	1,5	2,1038	2,2479	-6,85	1,3213	1,2983	1,74
10	EU. + Inòcul + FLP	2,4	2,8088	3,1334	-11,56	1,8147	1,9220	-5,91
11	EU. + Inòcul + FLP	2,4	2,8489	3,2446	-13,89	1,8317	1,9968	-9,01
12	Inòcul+ FLP (Control 2)	1,5	2,2612	2,4874	-10,00	1,4320	1,4634	-2,19
13	Inòcul + FLP (Control 3)	2,4	2,9209	3,1468	-7,73	1,8799	1,9290	-2,61

La producció de biogàs observada en tots els vials (vegeu Annex B: Gràfics de la producció de biogàs acumulat), ha de comportar la reducció de la matèria orgànica present en el substrat, que es correspon a la generació de biogàs format principalment per metà (CH_4), (Zhong et al., 2011). S'observa però, un augment dels sòlids volàtils en els tractaments compresos entre el 10 i 13. Aquest fet atípic pot ser causat a elevades relacions SIR. A la Taula 7.17, s'observa aquest comportament a relacions SIR de 2,4 majoritàriament i a 1,5 quan no s'aplica cap preparat.

Una reducció de sòlids volàtils s'observa per la resta de tractaments on s'ha aplicat algun dels dos preparats emprats en el treball (Amapex i Eurovix). La reducció observada comprèn valors des de 0,99 % fins 34,21 %, observant-se una major reducció pels tractaments 3, 4 i 5, els quals contenen només substrat i preparats. Això indica que la dinàmica de l'inòcul és la que provoca l'increment de la concentració de ST i SV, que pot ser degut a processos de resuspensió de partícules de l'inòcul.

En aplicar el preparat Amapex (tractament 3), el qual conté *Bacillus subtilis*, s'ha trobat una disminució del 34,1 % de SV. Aquest valor es pot contrastar amb el treball realitzat per Zhong et al. (2011), en el qual s'ha obtingut una disminució compresa entre (45,27 - 56,18) % dels SV havent aplicat un complex biològic, amb component de *Bacillus subtilis*.

Una solució per evitar l'efecte de l'inòcul seria afegir-ne baixes dosis d'aquest a l'hora de realitzar l'assaig de biodegradabilitat. El problema que sorgeix però és que s'obtenen unes corbes de la producció acumulada del metà que segueixen una corba sigmoïdal, on la concentració de microorganismes és limitant, cosa que es tradueix en una producció de metà lenta, la qual comporta temps de durada d'assaig molt superiors als que s'obtenen en assolir corbes logístiques (Solera et al., 2014). A més, la corba sigmoïdal és indicativa d'una cinètica diferent a la de primer ordre, tan sols interpretable amb models més complexos i amb més paràmetres incògnita que l'utilitzat (equació 1).

Capítol 8 Conclusions

De l'inventari realitzat dels preparats que es troben al mercat, es conclou que l'aplicació dels diferents preparats biològics, formats per enzims amb capacitat hidrolítica, resulta en una millora de la fase de desintegració i hidròlisi. La eficiència d'aquests preparats depèn de les condicions de treball, el tipus de substrat i l'inòcul emprat, entre altres, de manera que no es poden estandarditzar unes eficiències determinades aplicables en qualsevol circumstància. Per tal d'assegurar les dosis correctes dels preparats, i conèixer el rendiment del potencial de metà, cal fer proves de biodegradabilitat i assajos per tal de conèixer millor els efectes que es puguin donar.

En el present estudi, l'aplicació de preparats biològics formats per microorganismes i enzims com a pretractament de millora del procés de digestió anaeròbia ha incrementat de manera significativa el potencial de producció de biogàs, però no ha afectat de la mateixa manera en la millora de la velocitat del procés. S'han emprat dos preparats de cases comercials diferents, Amapex i Eurovix, a 3 i 6 dosis diferents dels preparats, respectivament. La durada del procés de digestió anaeròbia ha estat de 72 dies.

Els increments del rendiment del potencial de metà, observats en els tractaments als quals s'han aplicat els preparats Amapex i Eurovix han estat compresos entre el 12,98 % fins a 59,94 % respecte del grup control, el qual no contenia cap preparat.

En tots dos casos la concentració del preparat emprada ha influït en la producció de biogàs. En el cas d'Eurovix l'increment més gran en la producció de biogàs s'ha obtingut a la dosi més baixa emprada (66 mg/l), observant-se un increment en la producció de metà del 59,94 %. D'altra banda, pel preparat Amapex s'ha obtingut el millor rendiment del potencial de metà en aplicar una dosi de 666 mg/l, la qual es correspon amb un 19,96 % d'increment.

Pel que fa al segon paràmetre mesurat en aquest estudi, la constant global de desintegració/hidròlisi, els resultats del test estadístic indiquen que no es produeix una millora significativa de la velocitat de reacció per la majoria dels tractaments aplicats en aquest treball. L'únic increment significatiu s'ha produït pel preparat Amapex a la dosi de 366 mg/l. Aquest increment ha resultat en una millora del 59 % en la velocitat de reacció. Els valors obtinguts per la k'_{dis} han estat compresos entre el 0,047 dia⁻¹ i 0,145 dia⁻¹, obtenint-se el valor més elevat en emprar el preparat Amapex a la concentració descrita anteriorment.

Per tal de determinar la reducció de la DQO de la fracció del sobrenedant, s'han realitzat mesures a l'inici i al final de l'experiment. Els valors obtinguts han mostrat reduccions compreses entre el 1,78 % i el 31,23 % en els tractaments aplicats, obtenint-se la reducció més elevada en aplicar el preparat Amapex a una concentració de 1 g/l i sense addició d'inòcul. A més, els resultats de les analítiques de la DQO soluble, han aportat evidències a la hipòtesi de resuspensió de partícules col·loïdals a causa de la descomposició de matèria orgànica romanent de l'inòcul, ja que malgrat haver-se detectat increments en la DQO total en alguns tractaments, això no ha estat així en la determinació de la DQO soluble.

No s'han observat efectes positius en la reducció de SST i SSV en el sobrenedant de l'efluent tractat, molt probablement degut a un efecte de resuspensió de partícules de petita mida. Aquest fet podria estar produït a causa de l'inòcul, ja que sí que s'ha observat una reducció d'aquest paràmetre quan s'ha aplicat el preparat Amapex directament sobre el substrat, i en el cas del preparat Eurovix s'ha observat una reducció en aplicar-se una quantitat baixa d'inòcul.

En general, l'addició dels preparats emprats en el present treball ha comportat una millora sobre el potencial de metà i també sobre la constant global de desintegració i hidròlisi, indicant una major velocitat del procés gràcies a la descomposició de la matèria orgànica com a conseqüència de l'actuació dels enzims extracel·lulars produïts pels bacteris continguts en els preparats.

Capítol 9 Recomanacions per futurs estudis

En aquest treball s'han provat diferents concentracions del preparat Eurovix per tal de veure el seu efecte sobre la producció de biogàs i la velocitat de reacció tenint com a substrats els purins de porc. En algun dels tractaments les dosis emprades han estat més elevades que les que el fabricant recomanava, per tant s'hauria de provar amb dosis de $50 \text{ mg}_{\text{preparat}}/\text{substrat}$ o inferiors. La raó d'haver aplicat dosis més elevades és deguda al fet que a escala de laboratori no ha estat possible treballar amb dosis tan petites. Per tant s'hauria de treballar amb una balança de major precisió per futurs experiments.

En el cas del preparat Amapex, per tal de veure efectes positius sobre el paràmetre del potencial de metà, s'haurien d'emprar dosis superiors a 366 mg/l . També seria necessari provar dosis inferiors utilitzant balances de major precisió, per tal d'assegurar un major control de les dosis en l'experiment, i amb diferents SIR.

En els resultats de les analítiques realitzades dels sòlids suspesos, s'ha observat que l'inòcul afecta en la dinàmica del SST i SSV i caldrà tenir-ho en compte en futurs experiments, a fi d'utilitzar un inòcul homogeni i procedent d'un reactor AnSBR completament adaptat al substrat, en lloc d'un reactor de codigestió amb substrats heterogenis.

Cal remarcar la importància d'elaborar un tractament control (sense l'addició del preparat a avaluar) juntament amb un tractament blanc (només inòcul) per a cada relació inòcul/substrat emprat en l'experiment. D'aquesta manera es minimitza l'error produït durant l'arranjament de les dades, permetent tenir resultats comparables.

Capítol 10 Referències bibliogràfiques

- Angelidaki, I., Karakashev, D., Batstone, D.J., Plugge, C.M., Stams, A.J.M. (2011). Biomethanation and Its Potential. *Methods in Enzymology*, 494, pp.327–351.
- Angenent, L.T., Sung, S., Raskin, L. (2002). Methanogenic population dynamics during startup of a full-scale anaerobic sequencing batch reactor treating swine waste. *Water Research*, 36, pp.4648–4654.
- APHA, WPCF, AWWA. (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21^a ed. American Public Health Association. Washington, D.C.
- Arif, S., Liaquat, R., Adil, M. (2018). Applications of materials as additives in anaerobic digestion technology. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 97(August), pp.354–366.
- Baba, Y., Tada, C., Fukuda, Y., Nakai, Y. (2013). Improvement of methane production from waste paper by pretreatment with rumen fluid. *Bioresource Technology*, 128, pp.94–99.
- Banerjee, G., Scott-Craig, J.S., Walton, J.D. (2010). Improving Enzymes for Biomass Conversion: A Basic Research Perspective. *BioEnergy Research*, 3, pp.82–92.
- Brémond, U., de Buyer, R., Steyer, J., Bernet, N., Carrere, H. (2018). Biological pretreatments of biomass for improving biogas production: an overview from lab scale to full-scale. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90, pp.583–604.
- Campos, E. (2001). Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria. Tesis doctoral, Departament de Medi Ambient i Ciències del Sòl, Laboratori d'Enginyeria Ambiental (LEA), Universitat de Lleida. URL: <http://hdl.handle.net/10803/8229>. Consultat el 02/02/2017.
- Castoldi, R., Bracht, A., de Morais, G., Baesso, M.L., Correa, RCG., Peralta RA, Moreira RDPM, Polizeli MDTD, de Souza CGM, Peralta RM. (2014). Biological pretreatment of *Eucalyptus grandis* sawdust with white-rot fungi: Study of degradation patterns and saccharification kinetics. *Chemical Engineering Journal*, 258, pp.240–246.
- Chen, M., Xia, L., Xue, P. (2007). Enzymatic hydrolysis of corncob and ethanol production from cellulosic hydrolysate. *International Biodeterioration i Biodegradation*, 59, pp.85–89.
- Chylenski, P., Forsberg, Z., Ståhlberg, J., Várnai, A., Lersch, M., Bengtsson, O., Sæbø, S., Jarle-Horn, S, G.H.Eijsink, V. (2017). Development of minimal enzyme cocktails for hydrolysis of sulfite-pulped lignocellulosic biomass. *Journal of Biotechnology*, 246, pp.16–23.
- da Costa, J.A., Marques, Jr. J., Gonçalves, L., Rocha, M. (2015). Enhanced enzymatic hydrolysis and ethanol production from cashew apple bagasse pretreated with alkaline hydrogen peroxide. *Bioresource Technology*, 179, pp.249–259.
- Field, J., Sierra Alvarez, R., Lettinga, G. (1988). Ensayos anaerobios. *Actas del 4º Seminario de*

- Depuración anaerobia de aguas residuales. Valladolid, pag. 52-80.
- Flotats, X., Magrí, A. (2000). Tratamiento de la fracción líquida de purines de cerdo mediante un reactor discontinuo secuencial (SBR). "Residuos: revista técnica", 57, pp. 84-88.
- Flotats, X., Cegarra, J. (2004). Report of the round table session 4. Organic waste treatment: safety implications. A: International Conference of the FAO ESCORENA Network on Recycling of Agricultural, Municipal and Industrial Residues in Agriculture. "Sustainable Organic Waste Management for environmental Protection and Food Safety". Murcia, pp. 404.
- Flotats, X. (2006). Estrategias de tratamiento según las características de la materia prima y del producto. A: *Reunión de la Red Española de Compostaje. "Aspectos normativos, tecnológicos y medioambientales del compostaje. Ponencia presentada en la 2 Reunión Nacional de la Red Española de Compostaje (REC), Valencia, octubre 2006"*.
- Flotats, X., Sarquella, L. (2008). Producció de biogàs per codigestió anaeròbia. Col·lecció Quadern Pràctic. Barcelona, Institut Català d'Energia.
- Flotats, X., Palatsi, J., Fernández, B., Colomer, M.A., Illa, J. (2010). Identifying Anaerobic Digestion Models Using Simultaneous Batch Experiments. *Environmental Engineering and Management Journal*, 9, pp.313–318.
- Flotats, X., Bonmatí, A. (2016). Técnicas de gestión de deyecciones en zonas de alta densidad ganadera. "Mundo Ganadero", 268, pp. 40-44.
- Flotats, X., Bonmatí, A., Fernández, B., Sales, D., Aymerich, E., Irizar, I., Palatsi, J., Romero, L.I., Pérez, M., Vicent, T., Font, X. (2016). De Residuo a Recurso, el camino hacia la sostenibilidad, Volumen II.4: Procesos de biotransformación de la materia orgánica. Ingeniería y aspectos técnicos de la digestión anaeróbica. España: Mundi-Prensa Libros. Red Española de Compostaje.
- Forgács, G., Lundin, M., Taherzadeh, M., Sárvári Horváth, I. (2013). Pretreatment of Chicken Feather Waste for Improved Biogas Production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169, pp.2016–2028.
- Holliger, C., Alves, M., Andrade, D., Angelidaki, I., Astals, S., Baier U., Bougrier, C. Buffière, P., Carballa, M., de Wilde, V. Ebertseder, F., Fernández, B., Ficara, E., Fotidis, I., Frigon, J-C., Fruteai de Lacros, H., Ghasimi, D., Hack, G., Hartel, M., Heerenklage, J., Horvath, I., Jenicek, P., Koch, K., Krautwald, J., Lizasoain, J., Liu, J., Mosberger, L., Nistor, M., Oechsner, H., Oliveira, J., Paterson, M., Pauss, A., Pommier, S., Porqueddu, I., Raposo, F., Ribeiro, T., Pfund, F., Strömberg, S., Torrijos, M., van Eekert, M., van Lier, J., Wedwitschka, H., Wierinck, I. (2016). Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science and Technology*, 74, pp.2515–2522.
- Hu, Z.-H. i Yu, H.-Q. (2005). Application of rumen microorganisms for enhanced anaerobic fermentation of corn stover. *Process Biochemistry*, 40, pp.2371–2377.
- Jurado, E. (2014). Evaluation of aqueous ammonia soaking as pretreatment to enhance methane

- yield of swine manure fibers Tesis Doctoral. Section for Sustainable Biotechnology, Aalborg University Copenhagen, Denmark.
- Kolbl, S., Palocz, A., Panjan, J., Stres, B. (2014). Addressing case specific biogas plant tasks: Industry oriented methane yields derived from 5 L Automatic Methane Potential Test Systems in batch or semi-continuous tests using realistic inocula, substrate particle sizes and organic loading. *Bioresource Technology*, 153, pp.180–188.
- Kolbl, S., Forte-Tavčer, P., Stres, B. (2017). Potential for valorization of dehydrated paper pulp sludge for biogas production: Addition of selected hydrolytic enzymes in semi-continuous anaerobic digestion assays. *Energy*, 126, pp.326–334.
- Kuttner, P., Weißböck, A.D., Leitner, V., Jäger, A. (2015). Examination of commercial additives for biogas production. *Agronomy Research*, 13, pp.337–347.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M., Ladisch, M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 96, pp.673–686.
- Nayak, A., Ortiz, M., Flotats, X. (2017). Characteristics of inoculum suitable for degradation of polyphenols in wine wastewaters by anaerobic digestion. *AD15 - 15th World Congress on Anaerobic Digestion*, Beijing (China), 17-20 October 2017.
- Ozbayram, E., Kleinstaub, S., Nikolausz, M., Ince, B., Ince, O. (2017). Effect of bioaugmentation by cellulolytic bacteria enriched from sheep rumen on methane production from wheat straw. *Anaerobe*, 46, pp.122–130.
- Pérez-Rodríguez, N., García-Bernet, D., Domínguez, J.M. (2016). Effects of enzymatic hydrolysis and ultrasounds pretreatments on corn cob and vine trimming shoots for biogas production. *Bioresource Technology*, 221, pp.130–138.
- Pérez-Rodríguez, N., García-Bernet, D., Domínguez, J.M. (2017). Extrusion and enzymatic hydrolysis as pretreatments on corn cob for biogas production. *Renewable Energy*, 107, pp.597–603.
- Prenafeta-Boldú, F.X., Vila, J., Fernández, B., Riaú, V., Guivernau, M., Illa, J., Flotats, X., Viñas, M. (2015). Characterization of methanogenic biomass from a full-scale digester that might harbour SAO activity. *14th World Congress on Anaerobic Digestion*. Viña del Mar (Chile), 15-18 noviembre 2015.
- Rodríguez-Abalde, A. (2013). Anaerobic digestion of animal by-products, Pre-treatments and co-digestion. Tesis doctoral, Programa de doctorat d'Enginyeria Ambiental, Universitat Politècnica de Catalunya. URL:<http://hdl.handle.net/10803/134769>. Consultat el 02/02/2017.
- Rong, Y., Sillick, M., Gregson, C.M. (2009). Determination of Dextrose Equivalent Value and Number Average Molecular Weight of Maltodextrin by Osmometry. *Journal of Food Science*, 74, pp.C33–C40.
- Schroyen, M., Vervaeren, H., Van Hulle, S., Raes, K. (2014). Impact of enzymatic pretreatment on

- corn stover degradation and biogas production. *Bioresource Technology*, 173, pp.59–66.
- Schroyen, M., Vervaeren, H., Vandepitte, H., Van Hulle, S., Raes, K. (2015). Effect of enzymatic pretreatment of various lignocellulosic substrates on production of phenolic compounds and biomethane potential. *Bioresource Technology*, 192, pp.696–702.
- Shen, F., Li, H., Wu, H., Wang, Y., Zhang, Q. (2018). Effect of organic loading rate on anaerobic co-digestion of rice straw and pig manure with or without biological pretreatment. *Bioresource Technology*, 250, pp.155–162.
- Solera, R., Álvarez, C.J., Aymerich, E., Bedmar, E.J., Carballa, M., Castrillón, L., Flotats, X., Font, X., López, M.J., Marañón, E., Prenafeta, F., Tortosa, G. (2014). *De Residuo a Recurso, el camino hacia la sostenibilidad, Volumen II.2: Procesos de biotransformación de la materia orgánica. Aspectos biológicos de la digestión anaerobia*. España: Mundi-Prensa Libros. Red Española de Compostaje.
- Valldosera, M. (2016). Anàlisi de la modificació de la mida de partícules en un AnSBR (reactor discontinu seqüencial anaerobi). Treball final de grau, ESAB. Universitat Politècnica de Catalunya.
- Van Dyk, J.S., Pletschke, B.I. (2012). A review of lignocellulose bioconversion using enzymatic hydrolysis and synergistic cooperation between enzymes—Factors affecting enzymes, conversion and synergy. *Biotechnology Advances*, 30, pp.1458–1480.
- Vavilin, V.A., Fernandez, B., Palatsi, J., Flotats, X. (2008). Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: an overview. *Waste Management*, 28, pp. 939-951.
- Wen, B., Yuan, X., Li, Q., Liu, J., Ren, J., Wang, X., Cui, Z. (2015). Comparison and evaluation of concurrent saccharification and anaerobic digestion of Napier grass after pretreatment by three microbial consortia. *Bioresource Technology*, 175, pp.102–111.
- Zhang, Q., He, J., Tian, M., Mao, Z., Tang, L., Zhang, J., Zhang, H. (2011). Enhancement of methane production from cassava residues by biological pretreatment using a constructed microbial consortium. *Bioresource Technology*, 102, pp.8899–8906.
- Zheng, Y., Zhao, J., Xu, Fuqing., Li, Y. (2014). Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Progress in Energy and Combustion Science*, 42, pp.35–53.
- Zhong, W., Zhang, Z., Luo, Y., Sun, S., Qiao, W., Xiao, M. (2011). Effect of biological pretreatments in enhancing corn straw biogas production. *Bioresource Technology*, 102, pp.11177–11182.

ANNEXES

ANNEX A. Comprovació de la correspondència de la DQO soluble amb la DQO biodegradable aportada pels preparats.	63
ANNEX B. Gràfics de la producció de biogàs acumulat.	65
ANNEX C. Gràfics elaborats sobre el metà produït respecte a la DQO del substrat aplicat per a cada tractament.	70
ANNEX D. Composició del biogàs analitzat mitjançant cromatografia de gasos.	76

ANNEX A. Comprovació de la correspondència de la DQO soluble amb la DQO biodegradable aportada pels preparats

En aquest apartat s'ha realitzat la comprovació de que la DQO soluble analitzada pel servei científic-tècnic de l'IRTA, es correspon amb la DQO teòrica aportada pels compostos fàcilment biodegradables dels preparats.

En el cas del preparat Amapex es té informació sobre la proporció d'hidrats de carboni que aquest conté, la DQO teòrica de la qual s'ha de correspondre amb la DQO soluble mesurada. Amb la comprovació d'aquest fet es podrà assumir que passa el mateix en el cas d'aplicar el preparat Eurovix, pel qual no es té informació suficient sobre la seva composició.

Per tal de procedir als càlculs s'han realitzat les següents hipòtesis:

- La DQO soluble del preparat Amapex es correspon amb la DQO proporcionada pels hidrats de carboni que conté (maltodextrina).
- La DQO soluble del preparat Eurovix es correspon amb el cas de DQO aportada per un contingut desconegut la qual composició es suposa que es tracta de matèria fàcilment biodegradable.

S'ha realitzat la comprovació considerant l'aplicació de 0,03 g del preparat Amapex. Dosi afegida al tractament número 3, la qual es correspon amb 5,9307 mg DQO.

- Càlcul de la DQO soluble pel preparat Amapex:

$$0,03g \text{ Preparat} \times \frac{1kg \text{ Preparat}}{10^3g \text{ Preparat}} \times \frac{197,691gDQOsoluble}{kg \text{ Preparat}} = 5,93 \times 10^{-3}gDQOsoluble$$
$$5,93 \times 10^{-3}gDQOsoluble \times \frac{350 ml CH_4}{1gDQOsoluble} = 2,075 ml CH_4$$

La producció de metà corresponent a la DQO soluble és de 2,075 ml CH₄.

Es calcula si aquest valor correspon amb el valor teòric de la DQO aportada per la maltodextrina:

Fórmula de la maltodextrina: (C₆H₁₀O₅)_n

Dextrosa equivalent (D.E.): 18-20

Pes molecular: 900⁵

DQO calculada: 192 g DQO/mol maltodextrina

- Càlcul de la DQO teòrica dels hidrats de carboni solubles del preparat Amapex:

⁵ El pes molecular de la maltodextrina s'ha calculat a partir de la dextrosa equivalent (D.E.) referenciada per (Rong et al. 2009). S'ha agafat el valor més desfavorable per la realització dels càlculs, el qual és de 20 unitats de dextrosa equivalent.

$$\begin{aligned}
& \frac{192 \text{ g DQO}}{1 \text{ mol maltodextrina}} \times \frac{1 \text{ mol maltodextrina}}{900 \text{ g maltodextrina}} = \frac{0,213 \text{ g DQO}}{\text{g maltodextrina}} \\
0,03 \text{ g Preparat} & \times \frac{0,998 \text{ g maltodextrina}}{1 \text{ g Preparat}} \times \frac{0,94 \text{ g maltodextrina biodegradable}}{1 \text{ g maltodextrina}} \\
& = 0,028 \text{ g maltodextrina biodegradable} \\
& \frac{0,213 \text{ g DQO maltodextrina}}{\text{g maltodextrina}} \times 0,028 \text{ g maltodextrina biodegradable} \\
& = 5,99 \times 10^{-3} \text{ g DQO maltodextrina} \\
5,99 \times 10^{-3} \text{ g DQO maltodextrina} & \times \frac{350 \text{ ml CH}_4}{1 \text{ g DQO soluble}} = 2,098 \text{ ml CH}_4
\end{aligned}$$

Amb els resultats obtinguts s'observa que la primera hipòtesi es compleix, ja que la DQO soluble del preparat Amapex es correspon amb la DQO que aporta la maltodextrina en considerar la dosi de 0,03 g del preparat.

$$5,93 \times 10^{-3} \text{ g DQO soluble} \cong 5,99 \times 10^{-3} \text{ g DQO maltodextrina}$$

El valor de la DQO soluble representa el 98,99 % de la DQO teòrica calculada pels compostos biodegradables. Amb aquesta comprovació s'accepta la hipòtesi que la DQO soluble és aproximadament la que fa referència als compostos biodegradables.

Pel cas del preparat Eurovix com que es té informació de la proporció de la matèria biodegradable que aquest conté, es suposa que aquesta es correspon amb la DQO soluble, una vegada confirmada la hipòtesi descrita anteriorment.

- Càlcul de la DQO soluble pel preparat Eurovix:

$$\begin{aligned}
0,015 \text{ g Preparat} & \times \frac{1 \text{ kg Preparat}}{10^3 \text{ g Preparat}} \times \frac{68,455 \text{ g DQO soluble}}{\text{kg Preparat}} = 1,027 \times 10^{-3} \text{ g DQO soluble} \\
1,027 \times 10^{-3} \text{ g DQO soluble} & \times \frac{350 \text{ ml CH}_4}{1 \text{ g DQO soluble}} = 0,359 \text{ ml CH}_4
\end{aligned}$$

Finalment s'obté que:

Per $5,99 \times 10^{-3} \text{ g DQO}$ de la fracció biodegradable que conté el preparat Amapex s'obté una producció de biogàs de $2,098 \text{ ml CH}_4$.

Per $1,027 \times 10^{-3} \text{ g DQO}$ de la fracció biodegradable que conté el preparat Eurovix s'obté una producció de biogàs de $0,359 \text{ ml CH}_4$.

ANNEX B. Gràfics de la producció de biogàs acumulat

A continuació es mostra l'evolució de la producció de biogàs acumulada durant els 72 dies que durà l'assaig anaerobi en condicions mesòfiles (37 °C).

Tractaments controls

A la Figura 1, s'observa l'evolució de la producció de biogàs a tres diferents relacions SIR emprades en el present treball: (1,5, 2,5 i 4) $g\ SSV_{inòcul}/g\ DQO_{substrat}$. Tal com es pot observar el comportament de les corbes de biogàs és diferent per tots tres casos. Les corbes que es mostren representen una funció logística com a conseqüència d'una elevada activitat de l'inòcul present a cada relació SIR. Quant més quantitat d'inòcul hi ha, s'observa una major producció de biogàs i una velocitat també superior.

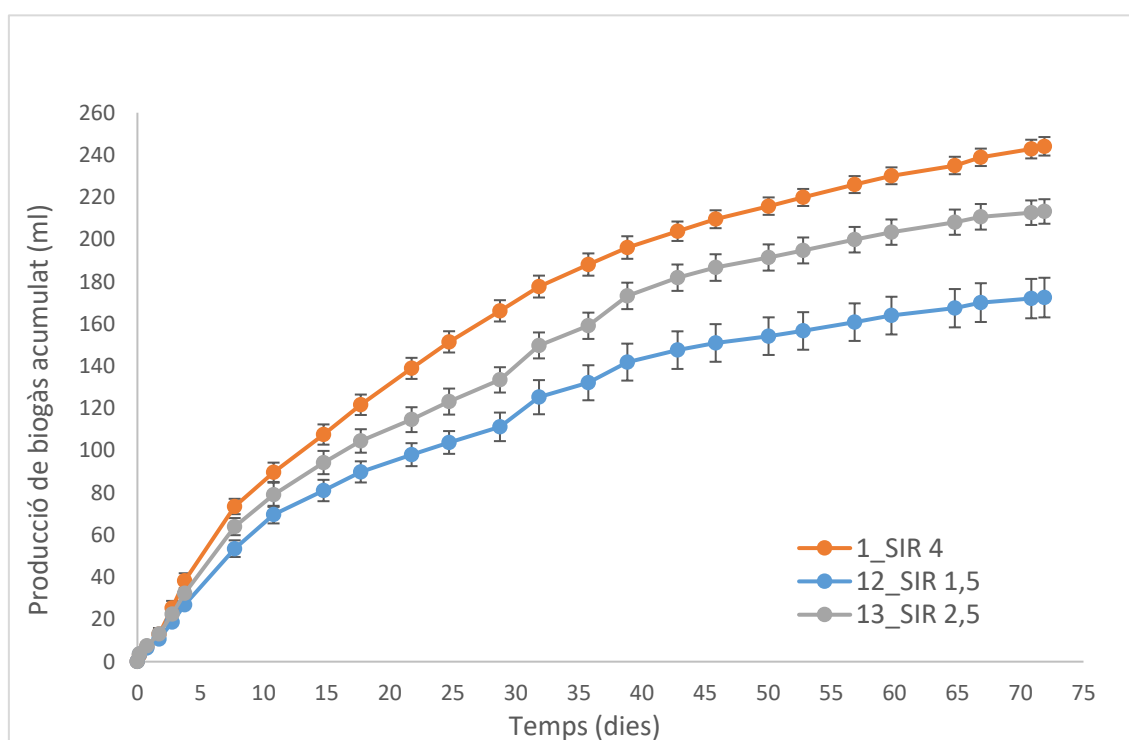


Figura 1 . Evolució de la producció de biogàs durant el procés de digestió anaeròbia a diferents relacions (SIR) aplicades: (1,5, 2,5 i 4) $g\ SSV_{inòcul}/g\ DQO_{substrat}$. Nota: Els valors estan expressats com la mitjana de les tres replics utilitzades en aquest estudi \pm l'error típic en condicions normals (0 °C i 1 atm.). Els números de la llegenda es corresponen amb la Taula 6.2 de la memòria, on es descriu el tipus de tractament aplicat.

La màxima producció de biogàs s'obté a la relació de SIR 4 $g\ SSV_{inòcul}/g\ DQO_{substrat}$. En aquest tractament s'ha variat només la concentració d'inòcul i s'ha mantingut la quantitat de substrat emprada. Per tant, aquest augment en la producció de biogàs és major quan més inòcul s'afegeix.

Com s'observa a la Figura 1, a les relacions SIR de: (1,5 i 2,5) $g\ SSV_{inòcul}/g\ DQO_{substrat}$, hi ha dues pujades sobtades en la producció de biogàs, observades en els dies 30 i 35. Aquest fet podria ser degut a la degradació de matèria orgànica per part de l'inòcul.

Producció de biogàs a relació SIR 1,5

A la Figura 2 s'observa l'evolució de la producció de biogàs, emprant la relació SIR de $1,5 \text{ g SSV}_{\text{inòcul}}/\text{g DQO}_{\text{substrat}}$, havent afegit els preparats comercials (Amapex i Eurovix) a les concentracions que es troben a la Taula 6.2 de la memòria. S'ha emprat un grup control per poder observar els efectes de l'aplicació dels preparats.

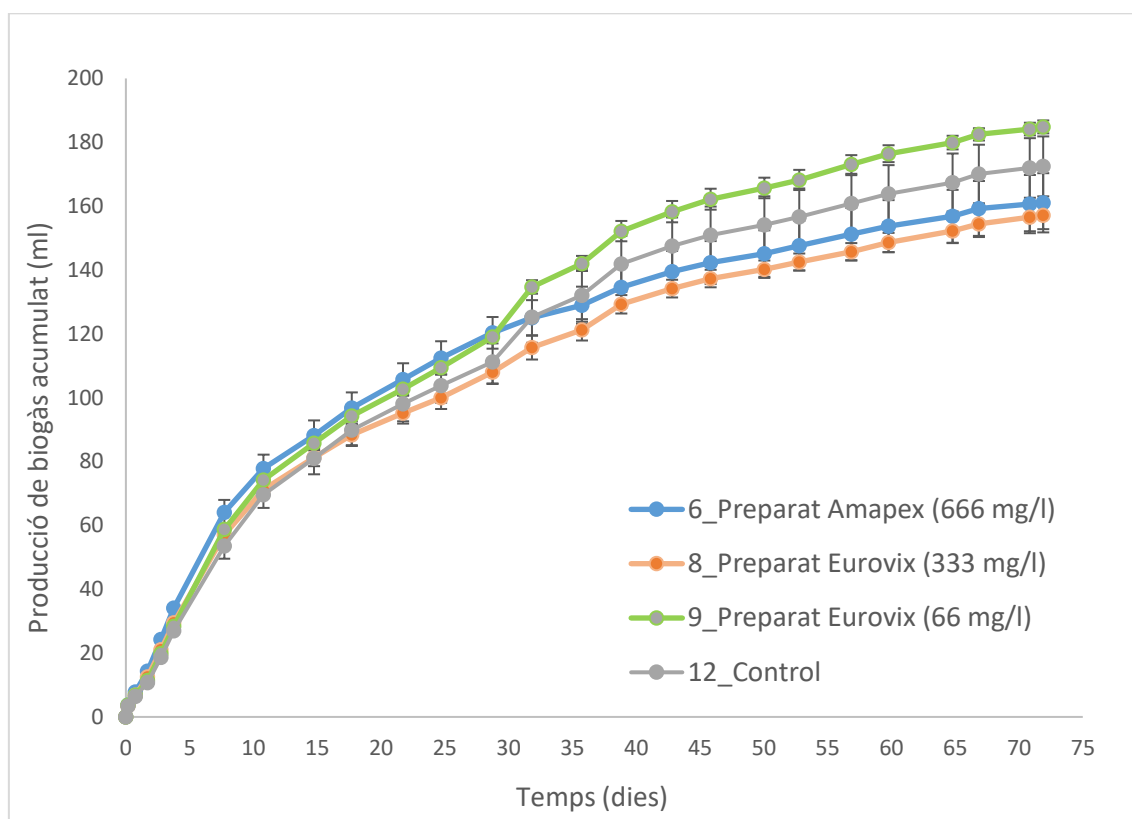


Figura 2. Evolució de la producció de biogàs durant el procés de digestió anaeròbia a $\text{SIR}=1,5 \text{ g SSV}_{\text{inòcul}}/\text{g DQO}_{\text{substrat}}$. En aquest experiment s'afegí els preparats comercials (Amapex i Eurovix) a les concentracions que es mostren a la figura i es comparà els resultats amb el grup control.

Nota: Els valors estan expressats com la mitjana de les tres replics utilitzades en aquest estudi \pm l'error típic en condicions normals (0°C i 1 atm). Els números de la llegenda concorden amb la Taula 6.2 de la memòria on es descriu el tipus de tractament aplicat.

A la Figura 2 s'observa dues pujades sobtades en la producció de biogàs durant els dies 30 i 40, aquest fet com ja s'ha observat anteriorment, indica que la causa és la dinàmica de l'inòcul i no un efecte que sigui provocat pels preparats.

S'observen les pujades de biogàs en aplicar el preparat Eurovix a concentracions de 333 mg/l i 66 mg/l , tractaments 8 i 9 respectivament, tot i que les pujades són més sobtades quan s'ha aplicat el preparat en menor dosi.

Respecte la corba que descriu el comportament després d'haver afegit el preparat Amapex, tractament 6, no s'observen aquestes pujades sobtades en la producció de biogàs. Aquest fet es podria atribuir a la presència de matèria orgànica fàcilment biodegradable present en el preparat, permet el creixement de biomassa, ja que la dinàmica que segueix la corba és la mateixa que segueix el tractament control 1, el qual presenta la màxima concentració d'inòcul ($\text{SIR } 4$).

En observar els primers 30 dies, s'observa una major producció de biogàs en el tractament 6, el qual conté el preparat Amapex. Ara bé, aquests valors canvien en arribar al final de l'assaig ja que s'observa una major producció pel tractament on s'ha aplicat el preparat Eurovix en menor dosis (66 mg/l).

Producció de biogàs a relació SIR 2,4

A la figura següent s'observa l'evolució de la producció de biogàs quan s'aplica una relació SIR de $2,4 \text{ g SSV}_{\text{inòcul}}/\text{g DQO}_{\text{substrat}}$, en haver-se aplicat els diferents preparats enzimàtics a les concentracions que s'indiquen a la Taula 6.2 de la memòria.

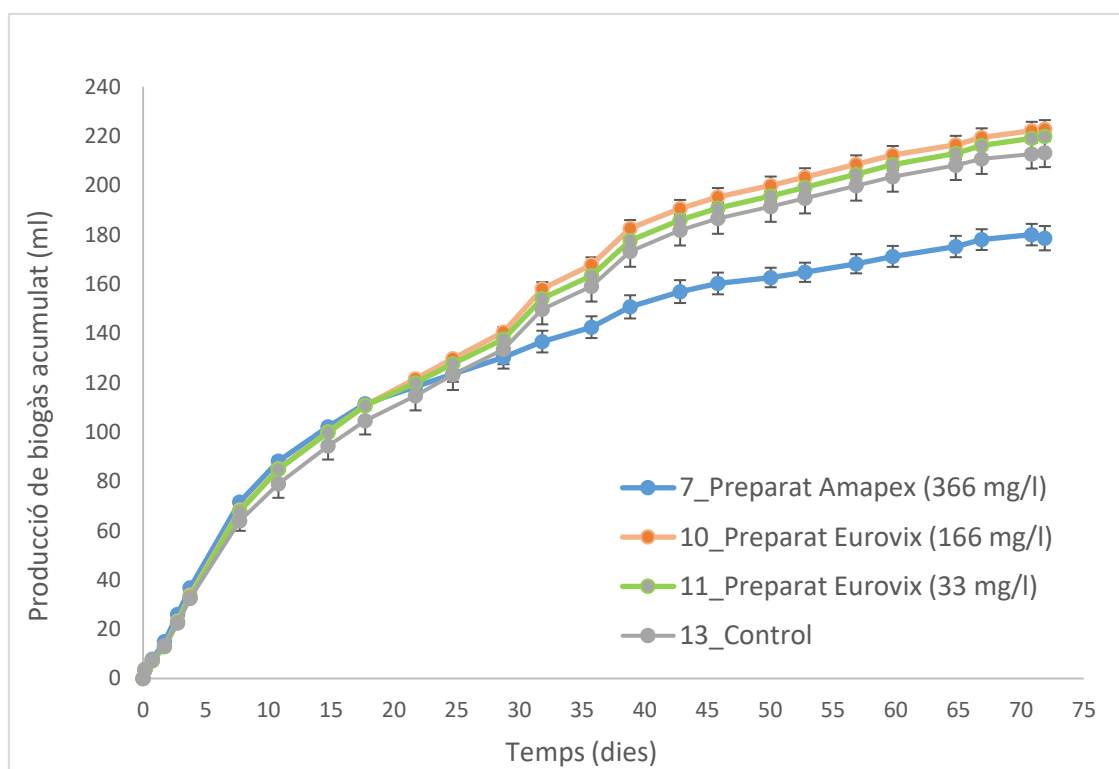


Figura 3. Evolució de la producció de biogàs durant el procés de digestió anaeròbia a $\text{SIR} = 2,4 \text{ g SSV}_{\text{inòcul}}/\text{g DQO}_{\text{substrat}}$. En aquest experiment s'afegí els preparats comercials (Amapex i Eurovix) a les concentracions que es mostren a la figura i es comparà els resultats amb el grup control. Nota: Els valors estan expressats com la mitjana de les tres replicues utilitzades en aquest estudi \pm l'error típic en condicions normals (0°C i 1 atm). Els números de la llegenda concorden amb la Taula 6.2 de la memòria on es descriu el tipus de tractament aplicat.

A la Figura 3 s'observen pujades sobtades en la producció de biogàs en els tractaments 10, 11 i 13 en els dies 30 - 40. Aquesta però succeeix a nivells diferents segons sigui el preparat emprat. En canvi el cas 7 que conté el preparat Amapex no s'observen aquests increments tan marcats.

No s'observen diferències significatives grans en els tractaments on s'ha emprat el preparat Eurovix en comparació amb el grup control. Respecte el tractament on s'ha emprat el preparat Amapex s'aconsegueix una major velocitat del procés durant els primers 20 dies aproximadament.

Efecte dels preparats emprats directament sobre es purins sense l'addició d'inòcul.

Tots dos preparats emprats en el present treball, estan formats per microorganismes i enzims hidrolítics. Amb l'objectiu d'observar com actuen sense la intervenció de l'inòcul, aquests s'han emprat sobre el substrat a tractar, els purins. La concentració de substrats ha estat la mateixa en tots els tractaments. Les concentracions emprades de cada preparat es descriuen a la Taula 6.2 de la memòria.

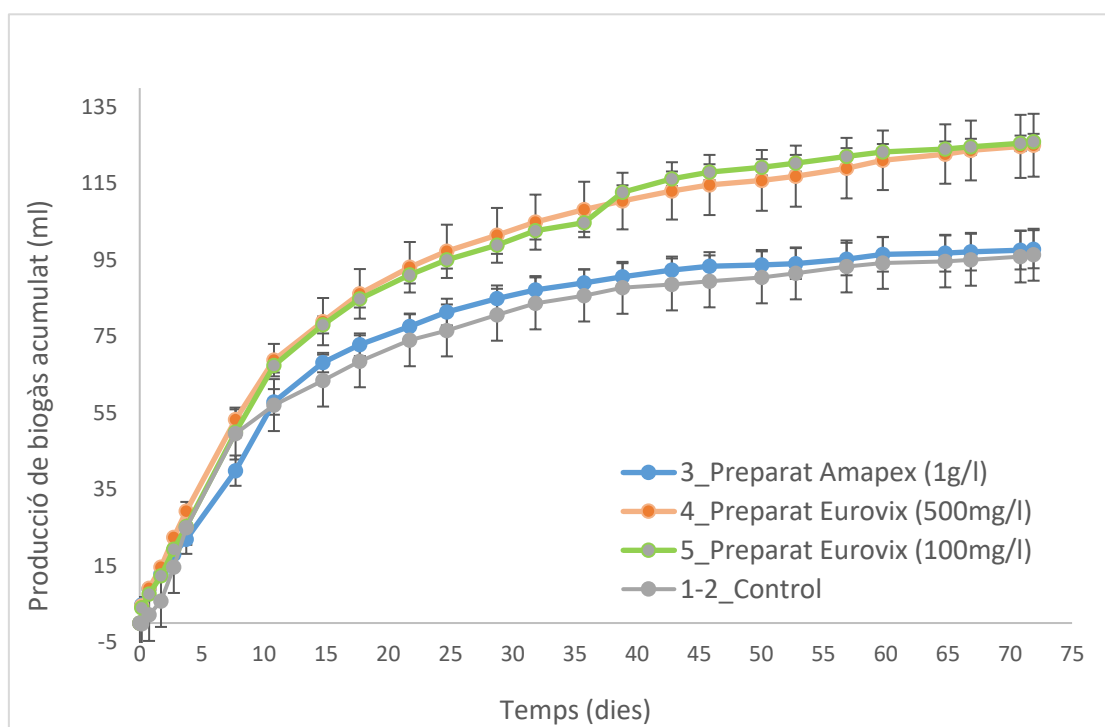


Figura 4. Evolució de la producció de biogàs durant el procés de digestió anaeròbia prenent com a substrat purins sense inòcul. En aquest experiment s'afegí els preparats comercials (Amapex i Eurovix) a les concentracions que es mostren a la figura i es comparà els resultats amb el grup control. Nota: Els valors estan expressats com la mitjana de les tres repeliques utilitzades en aquest estudi \pm l'error típic en condicions normals (0°C i 1 atm). Els números de la llegenda concorden amb la Taula 6.2 de la memòria on es descriu el tipus de tractament aplicat.

El tractament 1-2, anomenat control s'ha realitzat a partir de sostreure la quantitat de biogàs generada per l'inòcul (tractament 2) al tractament 1 (inòcul + purins) ja que els purins com a substrat per si sols no produeixen biogàs, sinó que ho fan gràcies a la intervenció de l'inòcul, el qual conté poblacions microbianes, les quals faciliten el trencament de la matèria orgànica particulada present en el substrat.

S'observa que els valors obtinguts de l'evolució de biogàs pel tractament control i el tractament amb preparat Amapex són molt similars. La desviació estàndard observada per tots dos tractaments és bastant elevada, indicant la dispersió dels resultats entre les diferents rèpliques emprades, cosa que podria ser causa d'un error experimental o de la baixa homogeneïtat del substrat.

La major producció de biogàs s'ha obtingut en emprar el preparat Eurovix. Dintre de les dues dosis aplicades de 100 mg/l i 500 mg/l no s'observen diferències significatives. Fet que indica que amb

una dosi de 100 mg/l ja s'aconsegueix una millora en la producció de biogàs en el tractament de purins mitjançant el procés de digestió anaeròbia.

Pel tractament 5, en emprar el preparat Eurovix a una concentració de 100 mg/l, s'observa una pujada sobtada en la producció de biogàs que succeeix quan han passat 35 dies de la posada en marxa de l'experiment. La qual cosa pot atribuir-se a la baixa concentració de matèria orgànica aportada pel preparat que fa canviar la dinàmica de l'inòcul.

Possiblement les pujades sobtades observades es produeixin per la descomposició de material recalcitrant per part de l'inòcul ja que tal com s'ha descrit en l'apartat materials i mètodes, l'inòcul emprat en el present treball té una elevada activitat en la descomposició de polifenols.

Evolució de la producció de biogàs de l'inòcul

A continuació s'observa el volum de biogàs produït per la fracció de substrat romanent continguda en l'inòcul.

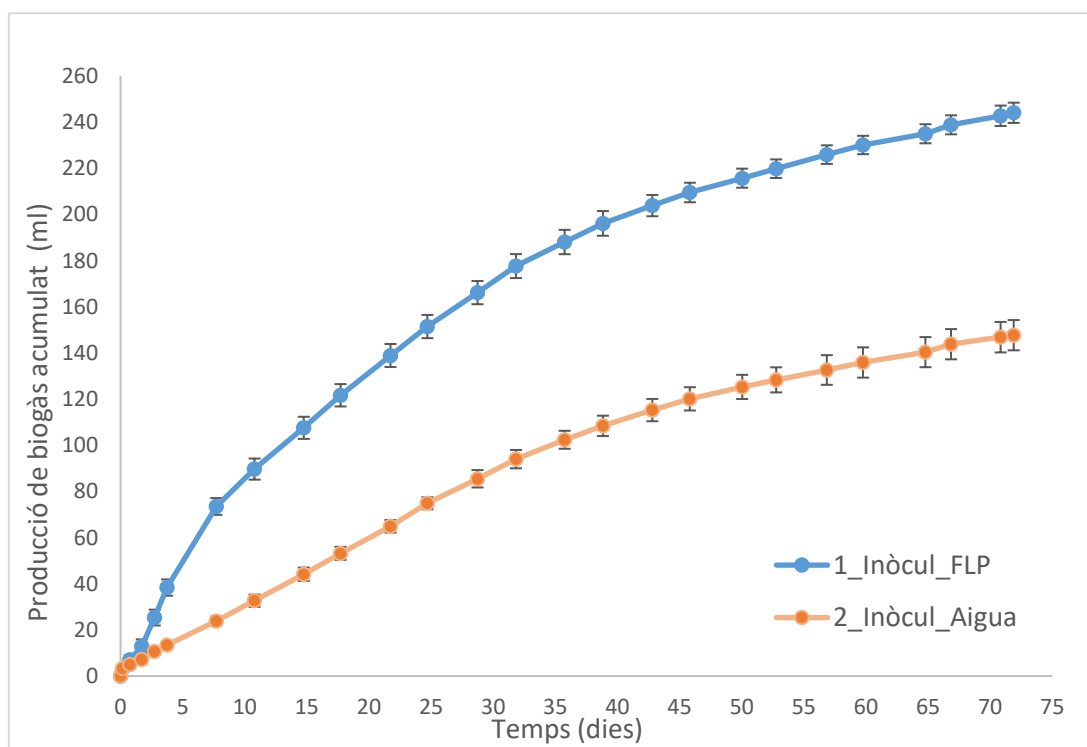


Figura 5. Evolució de la producció de biogàs de l'inòcul i purins amb inòcul sense l'addició de preparats
Nota: A la Figura 5 s'observa l'efecte dels purins sobre l'inòcul. Relació SIR aplicada pel tractament 1 és de $4 \text{ g SSV}_{\text{inòcul}}/\text{g DQO}_{\text{substrat}}$. Els números que es troben a la llegenda es corresponen amb la Taula 6.2 de la memòria, on es descriu el tipus de tractament aplicat. Els resultats estan expressats en condicions normals (0°C i 1 atm). Els experiments foren duts a terme a 37°C mitjançant el procés de digestió anaeròbia.

ANNEX C. Gràfics elaborats sobre el metà produït respecte a la DQO del substrat aplicat per a cada tractament.

A continuació es presenten les gràfiques elaborades a partir del càlcul de metà produït respecte als grams de DQO de substrat emprat per a cada cas. Tal com s'han explicat als capítols "Materials i mètodes i Resultats i Discussió", s'ha fet un arranament de les dades de la pressió de biogàs acumulada a partir de les concentracions de substrat aplicades per cada tractament, per tal de calcular les produccions del potencial de metà G_0 i els paràmetres de k'_{dis} . Aquests dos valors s'han obtingut a partir d'un primer tractament de les dades mitjançant el programari Minitab i un segon tractament de dades mitjançant el programari Excel on s'ha calculat els valors de G_0 i k'_{dis} i les seves desviacions estàndards tal com s'explica al capítol "Materials i mètodes", seguint Flotats et al. (2010).

Per tal d'obtenir l'ajust de la corba s'ha utilitzat les tres rèpliques emprades a l'assaig anaerobi. Aquestes són les corbes que es troben representades en colors: groc, taronja i blau. La corba grisa s'ha obtingut de l'ajust i és a partir d'aquesta que s'han obtingut els valors de G_0 i k'_{dis} . Aquests valors es troben a les taules 7.1 i 7.10 de l'apartat de Resultats i Discussió.

Les dades que es mostren gràficament en aquest Annex es sintetitzen en forma de taules de resultats al capítol de Resultats i Discussió.

Tractament 1_Control_FLP

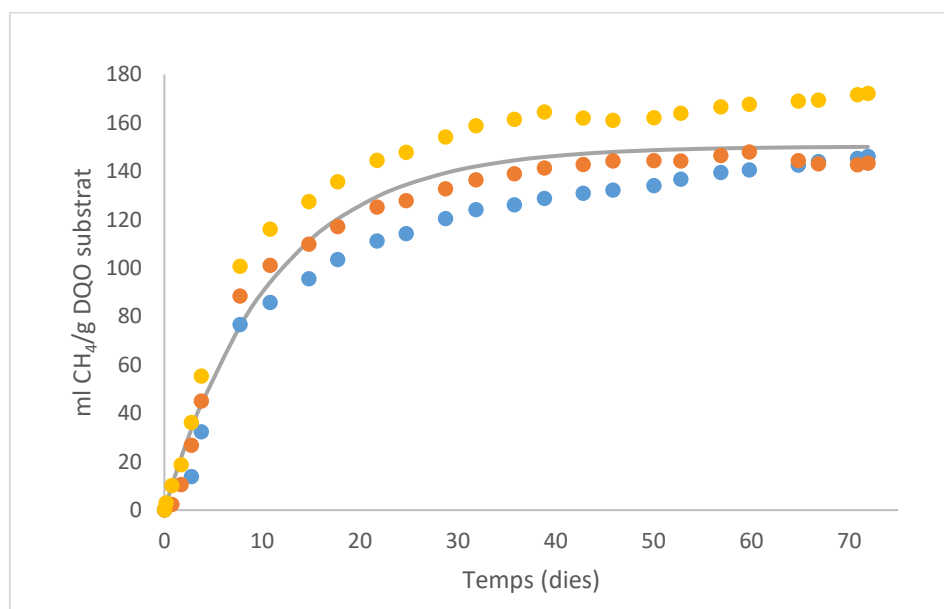


Figura 1. Evolució de la producció de metà acumulada pel tractament 1_Control_FLP

Tractament 3_Amapex

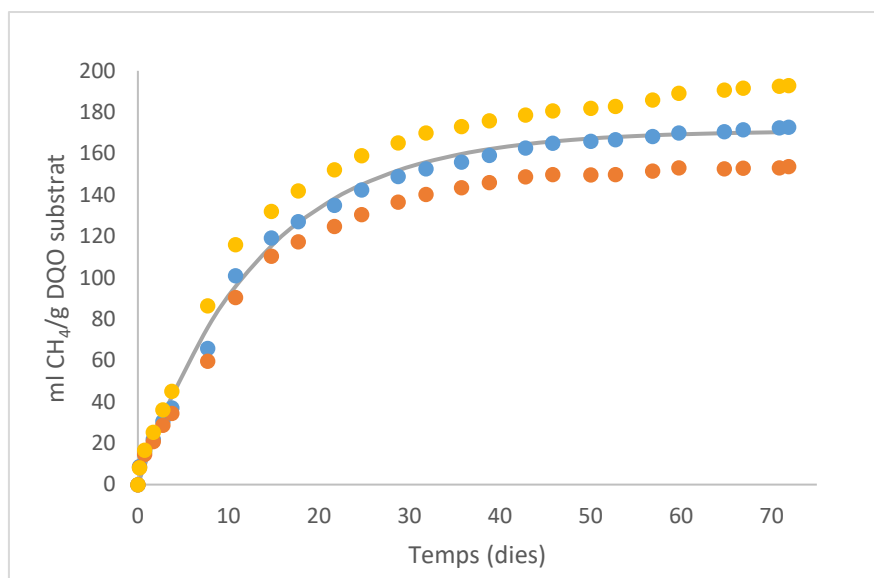


Figura 2. Evolució de la producció de metà acumulada pel tractament 3_Amapex

Tractament 4_Eurovix

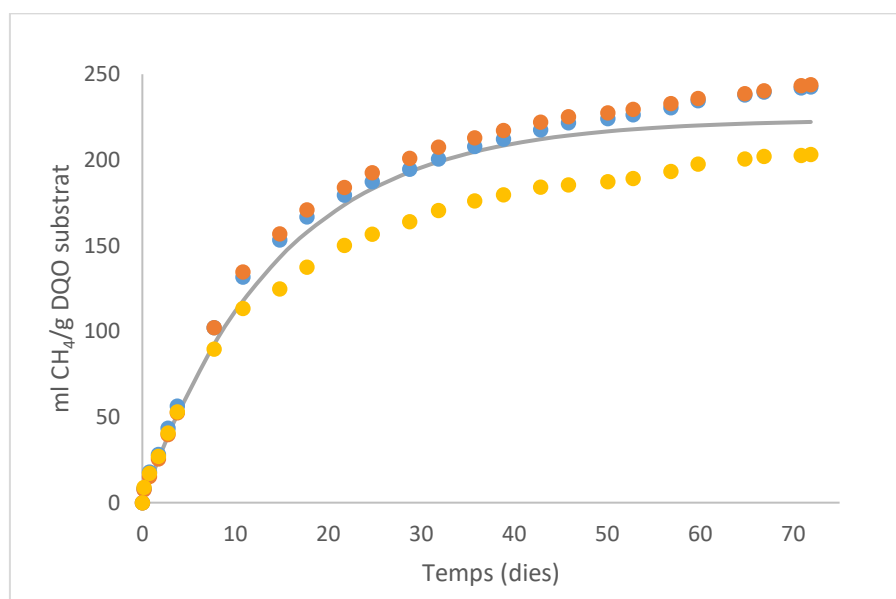


Figura 3. Evolució de la producció de metà acumulada pel tractament 4_Eurovix

Tractament 5_Eurovix

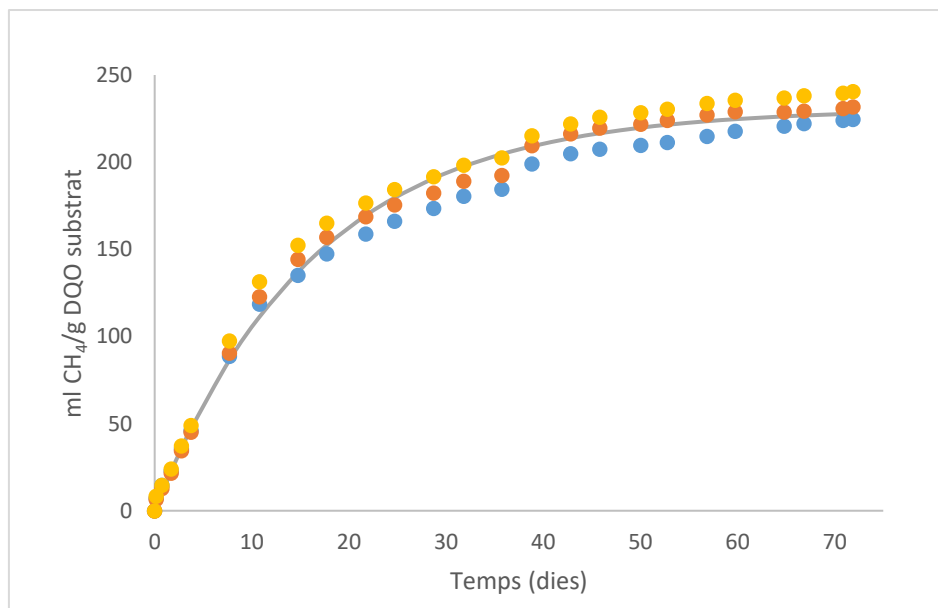


Figura 4. Evolució de la producció de metà acumulada pel tractament 5_Eurovix

Tractament 6_Amapex

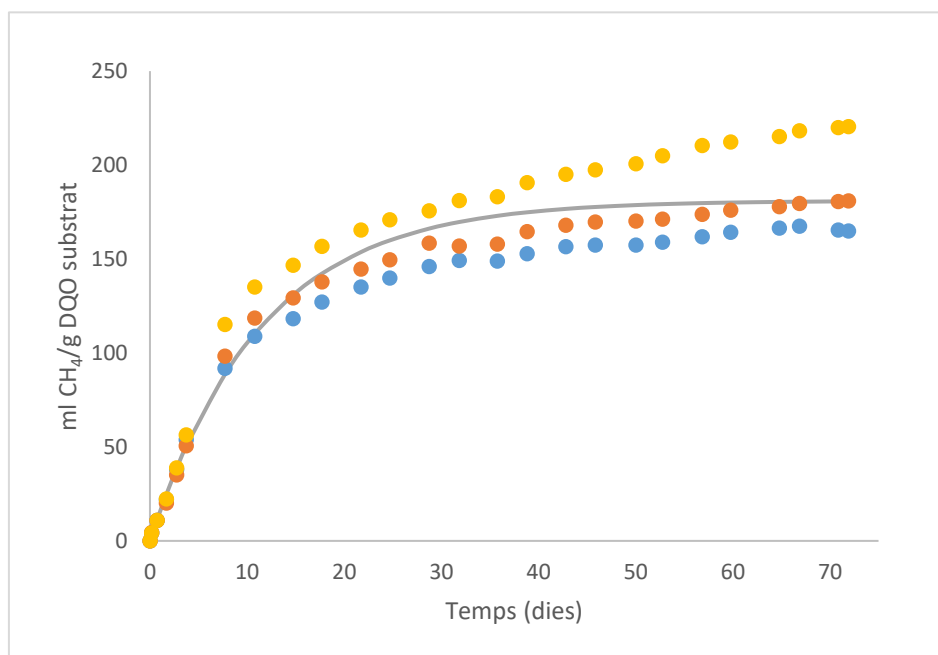


Figura 5. Evolució de la producció de metà acumulada pel tractament 6_Amapex

Tractament 7_Amapex

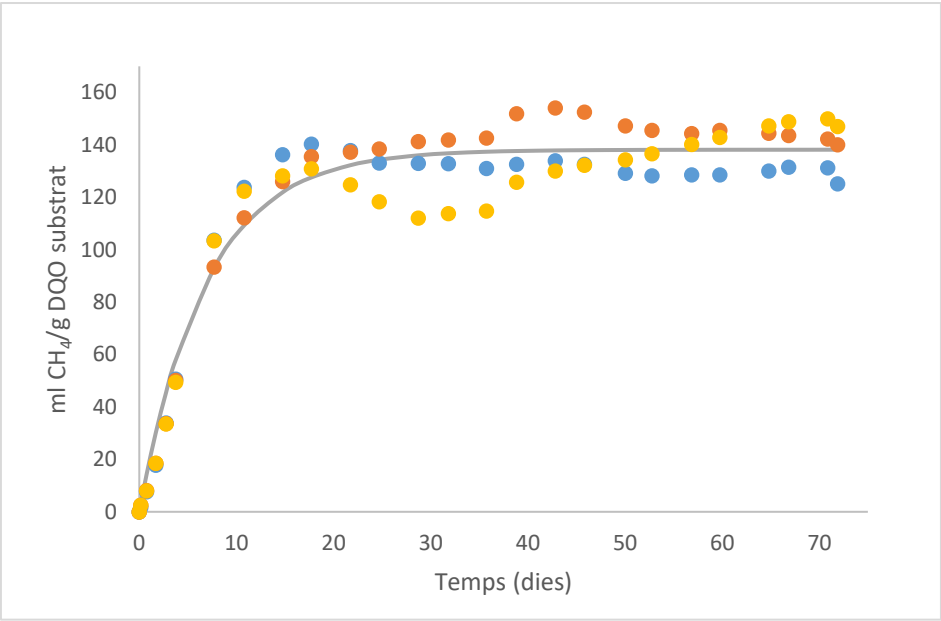


Figura 6. Evolució de la producció de metà acumulada pel tractament 7_Amapex

Tractament 8_Eurovix

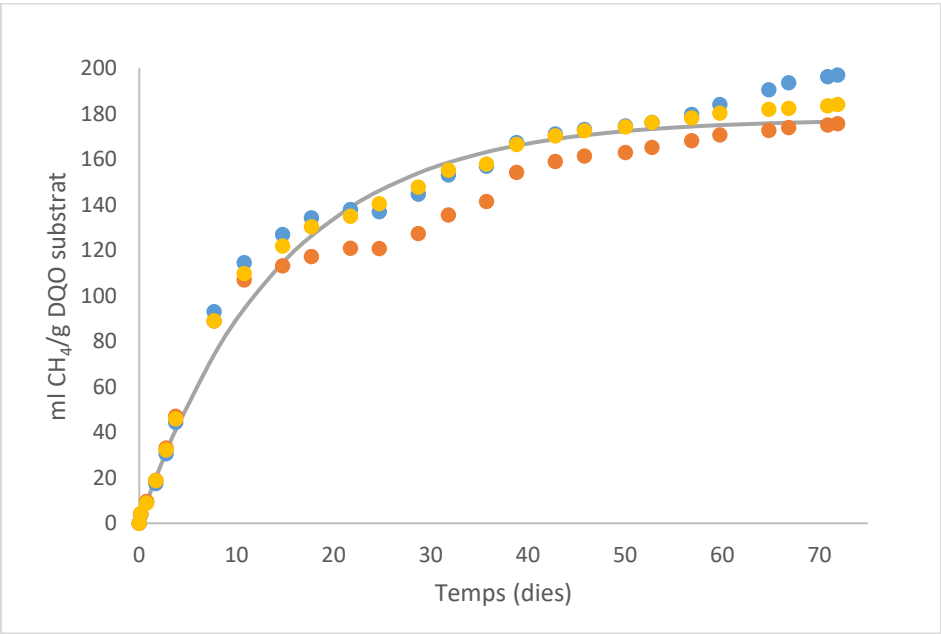


Figura 7. Evolució de la producció de metà acumulada pel tractament 8_Eurovix

Tractament 9_Eurovix

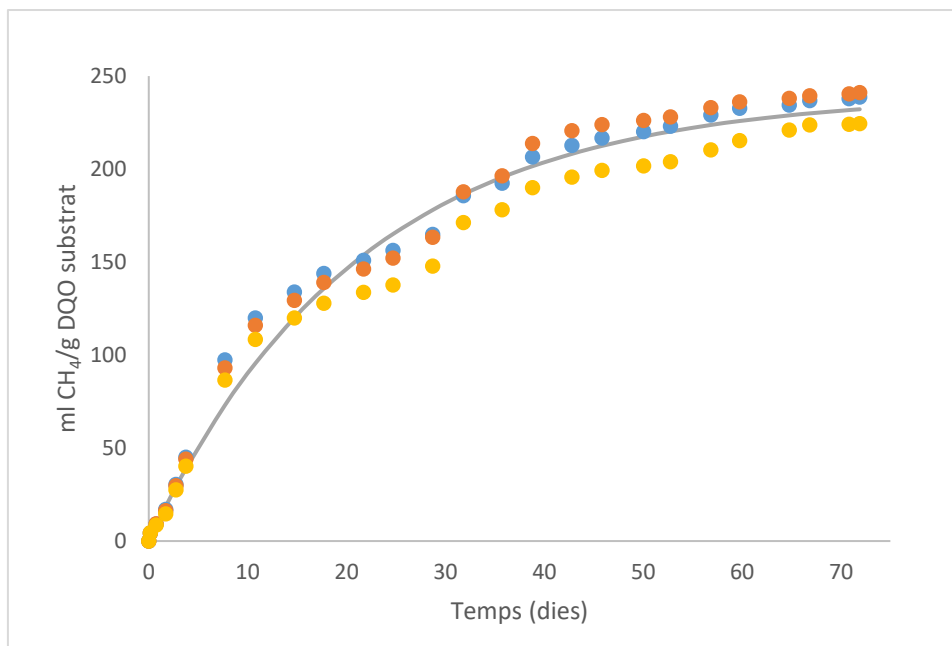


Figura 8. Evolució de la producció de metà acumulada pel tractament 9_Eurovix

Tractament 10_Eurovix

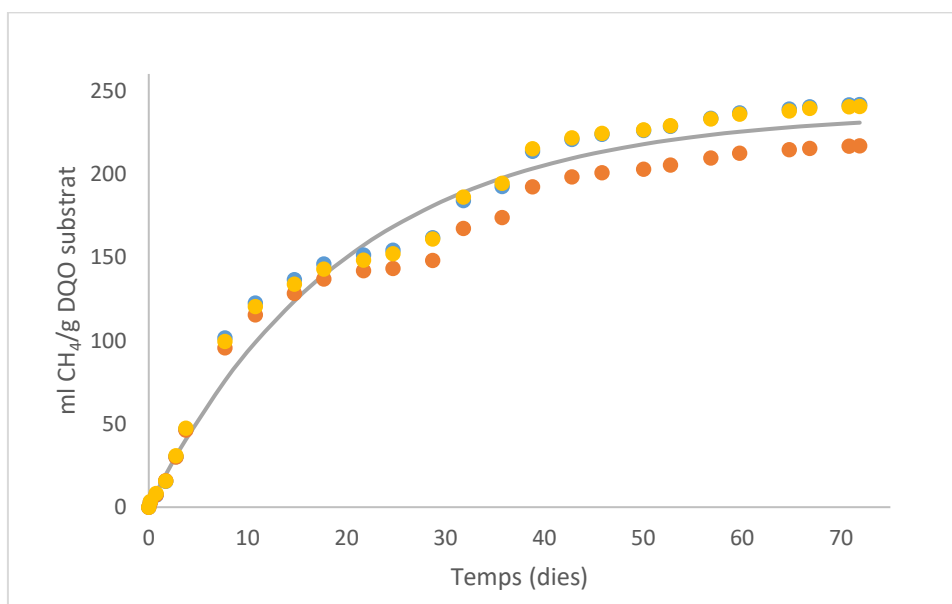


Figura 9. Evolució de la producció de metà acumulada pel tractament 10_Eurovix

Tractament 11_Eurovix

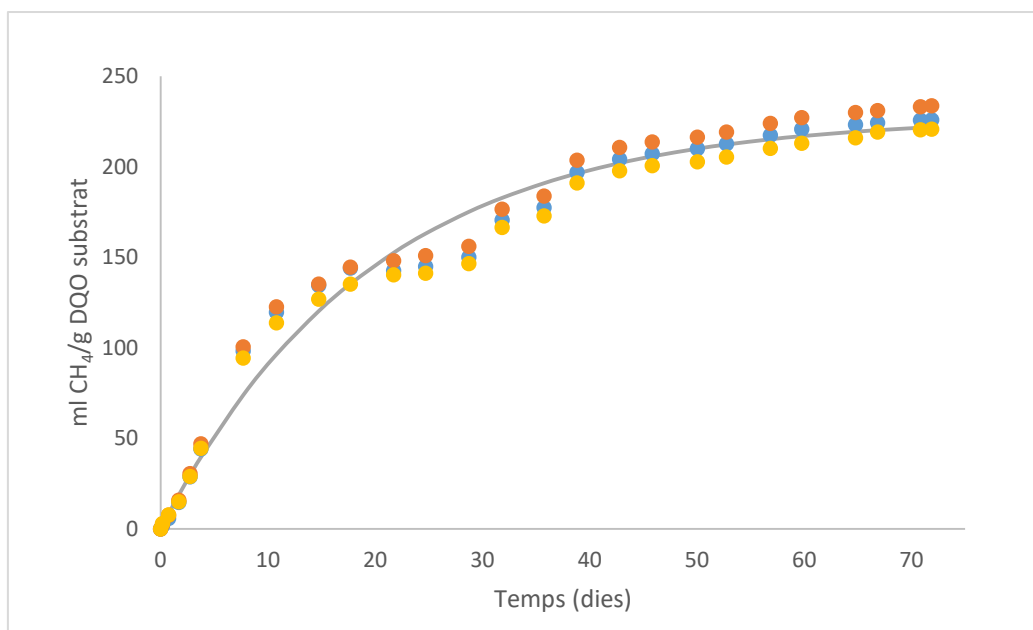


Figura 10. Evolució de la producció de metà acumulada pel tractament 11_Eurovix

ANNEX D. Composició del biogàs analitzat mitjançant cromatografia de gasos.

Número vials	N ₂ (mol)	CH ₄ (mol)	CO ₂ (mol)	BIOGAS (%)	CH ₄ (%)
1,1	2,604E-07	8,457E-06	3,416E-06	97,85%	71,23%
1,2	2,262E-07	7,155E-06	2,947E-06	97,81%	70,83%
1,3	1,799E-07	7,364E-06	2,991E-06	98,29%	71,12%
2,1	4,174E-07	8,331E-06	2,174E-06	96,18%	79,31%
2,2	4,222E-07	8,183E-06	2,092E-06	96,05%	79,64%
2,3	4,439E-07	8,376E-06	2,149E-06	95,95%	79,58%
3,1	1,425E-06	6,571E-06	1,903E-06	85,61%	77,54%
3,2	1,478E-06	6,186E-06	1,825E-06	84,42%	77,21%
3,3	1,02E-06	6,974E-06	2,187E-06	89,98%	76,13%
4,1	6,871E-07	7,537E-06	2,569E-06	93,63%	74,58%
4,2	1,02E-06	6,979E-06	2,493E-06	90,28%	73,68%
4,3	7,073E-07	6,986E-06	2,376E-06	92,98%	74,62%
5,1	1,074E-06	6,252E-06	2,002E-06	88,48%	75,74%
5,2	7,614E-07	6,923E-06	2,236E-06	92,32%	75,59%
5,3	4,873E-07	6,419E-06	2,429E-06	94,78%	72,55%
6,1	4,369E-07	6,984E-06	2,44E-06	95,57%	74,11%
6,2	3,321E-07	6,976E-06	2,653E-06	96,67%	72,45%
6,3	3,385E-07	7,072E-06	2,691E-06	96,65%	72,44%
7,1	2,723E-07	6,445E-06	2,573E-06	97,07%	71,47%
7,2	3,831E-07	6,241E-06	2,587E-06	95,84%	70,70%
7,3	5,311E-07	6,218E-06	2,444E-06	94,22%	71,78%
8,1	4,085E-07	6,808E-06	2,538E-06	95,81%	72,84%
8,2	3,934E-07	6,771E-06	2,316E-06	95,85%	74,51%
8,3	3,725E-07	6,678E-06	2,313E-06	96,02%	74,27%
9,1	3,523E-07	7,066E-06	2,485E-06	96,44%	73,98%
9,2	3,685E-07	6,294E-06	2,344E-06	95,91%	72,86%
9,3	3,862E-07	6,858E-06	2,687E-06	96,11%	71,85%
10,1	1,973E-07	7,103E-06	2,747E-06	98,04%	72,11%
10,2	3,056E-07	6,853E-06	2,615E-06	96,87%	72,38%
10,3	2,079E-07	6,871E-06	2,641E-06	97,86%	72,24%
11,1	2,094E-07	6,798E-06	2,726E-06	97,85%	71,37%
11,2	1,438E-07	7,136E-06	2,795E-06	98,57%	71,86%
11,3	2,841E-07	7,198E-06	2,72E-06	97,22%	72,57%
12,1	3,397E-07	7,027E-06	2,59E-06	96,59%	73,07%
12,2	4,195E-07	6,875E-06	2,624E-06	95,77%	72,37%
12,3	7,505E-07	6,303E-06	2,337E-06	92,01%	72,95%
13,1	3,288E-07	6,514E-06	2,554E-06	96,50%	71,84%
13,2	2,891E-07	7,606E-06	2,808E-06	97,30%	73,04%
13,3	2,87E-07	7,401E-06	2,779E-06	97,26%	72,70%